

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ENZİMATİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE
PAMUK YAĞI ELDESİ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
Mustafa SARAÇ**

Anabilim Dalı : Kimya Mühendisliği

Programı : Kimya Mühendisliği

OCAK 2011

**ENZİMATİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE
PAMUK YAĞI ELDESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Mustafa SARAÇ

(506081037)

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 20 Aralık 2010

Tezin Savunulduğu Tarih : 25 Ocak 2011

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN (İTÜ)
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY (İTÜ)
Doç. Dr. Sevil YÜCEL (YTÜ)

OCAK 2011

ÖNSÖZ

Öncelikle tez danışmanım Prof. Dr. Güldem ÜSTÜN'e, bana bu projede çalışma fırsatı verdiği ve çalışmalarım boyunca verdiği tavsiyeler ve destekler için en derin teşekkürlerimi ifade etmek isterim.

Çalışmalarım süresince verdiği destek ve yardımlardan dolayı Prof. Dr. H. Ayşe AKSOY ve Prof. Dr. Melek TÜTER'e de en derin teşekkürlerimi belirtmek isterim. Ayrıca aylar boyunca süren laboratuvar'daki deneyler süresince yardımlarını ve arkadaşlığını esirgemeyen Mehmet Akif Arslan'a da teşekkürlerimi iletmek isterim.

Bu çalışmada kullandığımız enzimleri bize temin ve hediye eden Novozymes Dış Ticaret Ltd.Ş 'ne teşekkür ederim.

Aralık 2010

Mustafa SARAÇ
Kimya Mühendisi

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER	v
KISALTMALAR	vii
ÇİZELGE LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ.....	xi
ÖZET.....	xiii
SUMMARY	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI	5
2.1 Pamuk ve Pamuk Üretimi Hakkında Bilgi.....	5
2.1.1 Pamuk tarımı.....	6
2.1.2 Dünya’da ve Türkiye’de pamuk üretimi ve gelişimi.....	9
2.1.3 Pamuğun kullanım alanları	11
2.2 Pamuk Yağı ve Üretim Değerleri Hakkında Bilgi	13
2.2.1 Pamuk yağı.....	13
2.2.2 Dünya’da ve Türkiye’de pamuk yağı üretimi	16
2.3 Bitkisel Yağ Eldesi ve Rafinasyonu	19
2.3.1 Ön işlemler.....	19
2.3.2 Mekanik presleme yöntemi ile bitkisel yağ üretimi.....	23
2.3.3 Çözücü ekstraksiyonu yöntemi ile bitkisel yağ üretimi.....	24
2.3.4 Bitkisel yağ rafinasyonu	24
2.4 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Yöntemi.....	24
2.5 Literatürde Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Üzerine Yapılmış Çalışmalar.....	28
3. DENEYSELÇALIŞMALAR.....	31
3.1 Kullanılan Hammaddeler.....	31
3.2 Yöntemler.....	32
3.2.1 Pamuk tohumlarının öğütülmesi ve karakterizasyonu.....	32
3.2.2 Pamuk yağı örneklerinin yağ asitleri bileşimlerinin belirlenmesi.....	33
3.2.3 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesi ve ekstraksiyon veriminin hesaplanması	34
3.2.4 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesine yüzey aktif madde katkısının etkisi.....	35
3.2.5 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile elde edilmiş yağın karakterizasyonu	36
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA.....	37
4.1 Pamuk Tohumunun Karakterizasyonu.....	37
4.2 Pamuk Tohumu Yağının Yağ Asitleri Bileşimi.....	38
4.3 Pamuk Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyonla Yağ Eldesine pH, Süre, Enzim Cinsi ve Miktarı ile Yüzey Aktif Madde Etkisi.....	38
4.3.1 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, yağ verimine tane boyutlarının etkisi	39

4.3.2 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, yağ verimine çözücü cinsinin ve enzim miktarının etkisi	41
4.3.3 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, geniş pH aralığında yağ veriminin değişimi.....	44
4.3.4 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, süre artışının yağ verimine etkisi.....	45
4.3.5 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, yüzey aktif madde katkısının yağ verimine etkisi.....	48
4.4 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Elde Edilen Pamuk Yağının Karakterizasyonu	49
5. VARGILAR VE ÖNERİLER...	51
KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	57

KISALTMALAR

AD	: Asit Değeri
AOCS	: Amerikan Yağ Kimyacıları Derneği
AU	: Anson Birimi
EGU	: Endo Glukanaz Birimi
ESE	: Enzimatik Sulu Ekstraksiyon
V_K	: Enzimatik Yağ Verimi (Kati bakiye üzerinden)
V_S	: Enzimatik Yağ Verimi (Sıvı fraksiyonlar üzerinden)
FAME	: Yağ Asidi Metil Esterleri
FFA	: Serbest Yağ Asitleri
P1	: < 0,6 mm tane boyutundaki pamuk tohumu
P2	: 0,6 - 1 mm tane boyutundaki pamuk tohumu
PEG	: Poli Etilen Glikol
PY1	: < 0,6 mm tane boyutundaki pamuk yağı
PY2	: 0,6 - 1 mm tane boyutundaki pamuk yağı
SE	: Sulu Ekstraksiyon
SP-L	: Sfingosin-1-Fosfat Liyaz

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 2.1: Dünya pamuk üretim ve tüketim değerleri.....	9
Çizelge 2.2: Pamuk çekirdeğinin ve küspesinin kompozisyonu.....	13
Çizelge 2.3: Pamuk yağının bazı karakteristik özellikleri.....	14
Çizelge 2.4: Pamuk çekirdeği yağının yağ asidi ve trigliseridi kompozisyonları.....	15
Çizelge 2.5: Dünya’da bitkisel yağ üretim miktarları.....	17
Çizelge 2.6: Türkiye’de bazı rafine yağların üretim durumları.....	17
Çizelge 2.7: Türkiye’de kişi başına bitkisel yağ tüketimi.....	18
Çizelge 2.8: Yıllara göre Türkiye pamuk yağı ihracatı.....	18
Çizelge 4.1: P1 ve P2 pamuk tohumu fraksiyonlarının nem ve yağ içerikleri.....	37
Çizelge 4.2: P1 ve P2 tohum fraksiyonları yağlarının yağ asitleri bileşimleri.....	38
Çizelge 4.3: P1 tohum fraksiyonunun proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi.....	39
Çizelge 4.4: P1 ve P2 tohum fraksiyonlarının proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi.....	40
Çizelge 4.5: P1 tohum fraksiyonunun proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH, çözücü cinsi ve enzim miktarının etkisi	41
Çizelge 4.6: P1 tohum fraksiyonunun selülaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH, çözücü cinsi ve enzim miktarının etkisi	42
Çizelge 4.7: P1 tohum fraksiyonunun pektinaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH, çözücü cinsi ve enzim miktarının etkisi	42
Çizelge 4.8: P1 tohum fraksiyonunun proteaz, selülaz ve pektinaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonlarında, yağ verimine pH etkisi.....	44
Çizelge 4.9: P1 tohum fraksiyonunun proteaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre etkisi.....	46
Çizelge 4.10: P1 tohum fraksiyonunun selülaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre etkisi.....	46
Çizelge 4.11: P1 tohum fraksiyonunun pektinaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre etkisi.....	47
Çizelge 4.12: P1 tohum fraksiyonunun pektinaz, Texapon ve pektinaz-Texapon karışımı ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda yağ veriminin değişimi	49
Çizelge 4.13: Enzimatik sulu ekstraksiyon ve Soxhlet yöntemine göre elde edilmiş pamuk yağı örneklerinin yağ asitleri bileşimleri.....	50

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Pamuk bitkisi.....	5
Şekil 2.2: Türkiye’de yıllara göre pamuk ekim alanı ve üretimi.....	10
Şekil 2.3: Türkiye’de bölgelere göre pamuk ekim alanı.....	10
Şekil 2.4: Pamuğun kullanım alanları.....	12
Şekil 2.5: Magnetik ayırıcı (soldaki) ve çöp sensörü.....	19
Şekil 2.6: Taş ayırıcı.....	19
Şekil 2.7: Kabuk ayırma makinesi (soldaki) ve elek türleri.....	20
Şekil 2.8: Kabuk kırma makinesi.....	21
Şekil 2.9: Kabuk kırma valsi ve ünitesi.....	22
Şekil 2.10: Dört aşamalı pişirme tankı.....	23
Şekil 2.11: Filtre pres (soldaki) ve helezon pres (sağdaki).....	23
Şekil 2.12: Pamuk tohumunun enzimatik sulu yağ ekstraksiyonu blok diyagram... ..	25
Şekil 3.1: Soxhlet düzeneği.....	32
Şekil 4.1: Pamuk tohumlarının proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarlarının etkisi (pH 5) ..	43
Şekil 4.2: Pamuk tohumlarının proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarlarının etkisi (pH 6) ..	43
Şekil 4.3: Pamuk tohumlarının proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH etkisi.....	45
Şekil 4.4: Pamuk tohumlarının proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (Vs) yağ verimine sürenin etkisi.....	47
Şekil 4.5: Pamuk tohumlarının proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (V _K) yağ verimine sürenin etkisi	48

ENZİMATİK EKSTRAKSİYON YÖNTEMİ İLE PAMUK YAĞI ELDESİ

ÖZET

Dünyada yılda 3,8 - 4,3 milyon ton arasında pamuk yağı üretilmektedir. Türkiye yılda 130.000-150.000 ton pamuk yağı üretimi ile dünya sıralamasında 6. sırada yer almaktadır. Pamuk tohumları % 30 - 40 oranında yağ içerir. Bu yağ % 13 - 44 oleik ve % 33 - 58 linoleik asit içerdiği için, oleik-linoleik asid grubu bitkisel yağ sınıfında yer alır. En önemli doymuş yağ asidi ise % 17 - 20 oranındaki palmitik asittir. Pamuk yağı rafine sıvı yağ olarak tüketilir, gıda ve kimya sanayinde margarin ve sabun üretiminde kullanılır. Pamuk yağı dizel yakıtı olarak da değerlendirilebilir.

Pamuk tohumlarından hekzan ekstraksiyonu veya presleme ve hekzan ekstraksiyonu ile yağ elde edilmektedir. Hekzan ortamında çalışmak emniyet, çevre kirliliği açısından sıkı tedbirlerin alınmasını gerektirdiğinden hekzan ekstraksiyon ünitelerinin yatırım ve işletme maliyetleri yüksektir. Son yıllarda, tohum yağlarının ekstraksiyonu için alternatif yöntemlere yönelme olduğu, enzim ve yüzey aktif madde katkılı ekstraksiyon yöntemleri üzerine yapılmış çalışmaların hızla arttığı gözlenmektedir.

Bu çalışmada, yüksek verimle pamuk yağ eldesi için, pamuk tohumlarına sulu enzimatik ekstraksiyon uygulanmıştır. Bu amaçla, tohumların ekstraksiyonu su ile yapılmış ve suya hücre çeperlerini degrade edebilecek enzimler (proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri) ilave edilmiştir. Yağ verimine reaksiyon parametrelerinin (pH, enzim cinsi ve miktarı, tanecik boyutu ve sürenin) etkisi incelenmiş ve reaksiyon parametreleri optimize edilmiştir.

Enzimatik ekstraksiyonlar, P1 (0,6 mm'den küçük tane boyutlarındaki) tohum fraksiyonu ile, 1:7 tohum:tampon çözelti oranında, pH 4-8 aralığında, 0,25 - 1,25 mL/g enzim miktarlarında ve 4 - 24 saatlik sürede gerçekleştirilmiştir. Proteaz olarak Alcalase 2.5L, selülaz olarak Celluclast 1.5L ve pektinaz olarak Pectinex Ultra Clear ticari enzimleri kullanılmıştır. Bu çalışmada ayrıca sulu ekstraksiyon ortamına bir anyonik yüzey aktif madde katılmış ve bu katkının yağ verimine olan etkisi de incelenmiştir.

Pektinaz sulu enzimatik prosesde en etkili enzim olmuştur. pH 5'de, 0,75 mL/g pektinaz miktarında 24 saat enzimatik işlem uygulandığında, küspede kalan yağ miktarının tespiti ile tohum yağının % 91'inin hücrelerden sulu ortama geçmiş olduğunu belirlenmiştir. Buna karşılık sulu ekstraksiyon ortamından % 65,2 verimle yağ elde edilebilmektedir. Stabil yağ-su emülsiyonunun kırılmaması nedeniyle bu kayıp oluşmaktadır.

Pamuk tohumlarından konvansiyonel çözücü ekstraksiyonu ve enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemi ile elde edilmiş yağlar mukayese edilmiştir. Yağ asitleri bileşimleri arasında istatistiksel olarak önemli fark olmadığı belirlenmiştir.

PRODUCTION OF COTTONSEED OIL BY ENZYMATIC EXTRACTION METHOD

SUMMARY

World annual cottonseed oil production is around 3.8 – 4.3 million tons. Turkey, with the annual production of 130.000 - 150.000 tons of crude cottonseed oil, ranks sixth in total production of the world. Cottonseeds contain 30 – 40 % oil. This oil, consisting 13 - 44 % oleic and 33 - 58 % linoleic acids is typical of the oleic-linoleic acid group vegetable oils. The major saturated fatty acid in seed oil is palmitic acid with a proportion of 17-20 %. Cottonseed oil is used as edible oil and in the production of margarine and soap in the food and chemical industries. Additionally it can also be evaluated as biodiesel.

Cottonseed oil is typically produced from seeds by either hexane extraction or a combination of mechanical pressing and hexane extraction. Because of the safety and environmental issues associated with the use of hexane, the construction and operational costs of hexane extraction facilities are high. In recent years, it was observed that numerous studies have been directed towards the alternative methods for oilseed extraction, including aqueous, enzyme-, and surfactant-assisted extraction methods.

In this study, to produce cottonseed oil with a high yield, aqueous enzymatic extraction was applied to cottonseeds. For this purpose, protease, cellulase and pectinase enzymes which could degrade the cell walls of seeds were dissolved in water. The effects of reaction parameters (pH, type and amount of enzymes, particle size and time) on the oil yield were investigated and optimized.

Enzymatic extractions were conducted with P1 seed fraction, particle size < 0.6 mm taking a seed-to-buffer solution ratio of 1:7, between pH 4 to 8, using 0.25 – 1.25 mL/g enzyme amounts for 4 – 24 h at 50 °C. Alcalase 2.5L, Celluclast 1.5L and Pectinex Ultra Clear commercial enzymes were used as protease, cellulase and pectinase enzymes, respectively. Finally an anionic surfactant was added to aqueous extraction medium and its effect on the oil yield was also investigated.

Pectinase was quite effective in aqueous enzymatic process. When the enzymatic process conducted with 0.75 mL/g of pectinase at pH 5 for 24 h, the residual oil amount of the meal revealed that 91 % of oil released from the seeds. However 65.2 % of total oil in the seeds was collected from extraction medium due to the formation of a stable oil-in-water emulsion.

The oils extracted from cottonseeds by conventional solvent extraction and aqueous enzymatic extraction were compared. No significant variation was observed in their fatty acid compositions.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yağlı tohumlar, enerjinin büyük bir kısmının yağ şeklinde depolandığı ekinlerdir. Bazı yağlı tohumlar, yer fıstığı ve ayçiçek gibi doğrudan yiyecek olarak tüketilebilir; fakat diğerleri spesifik olarak yağ ve küspe eldesi için işlenir. Sürekli artan dünya nüfusu ve yükselen yaşam standartlarına bağlı olarak yağlı tohumların üretimi hızlı bir şekilde artmıştır. Ayrıca, teknolojik gelişmeler üretim kalitesi ve çeşitlilikte daha yüksek üretim seviyeleri ve gelişmelere neden olmuştur. Yağın kullanımına bağlı olarak yağlı tohumlar yemeklik bitkisel yağ ve yenmeyen yağ içeren tohumlar olarak sınıflandırılabilir. Pamuk yağı her iki durum için kullanılabilir. Pamuk tohumu diğer yağlı tohumlara; örneğin ayçiçeği tohumuna benzer bir yapısı vardır ve sabit bir dış gövde ile çevrili yağ içeren çekirdekten oluşur. Pamuk yağı lezzeti nedeniyle salat yağı, mayonez ve benzer ürünlerde kullanılabilir. Pamuk çekirdeğinden elde edilen pamuk yağı, margarin ve rafine sıvı yağ olarak gıda endüstrisinde kullanılmaktadır. Pamuk yağı, yemeklik yağ, sabun ve kimya sanayinde kullanılmasının yanında dizel yakıtı olarak da değerlendirilebilir.

Bitkisel yağlar genellikle mekanik presleme ve sonrasında organik çözücü ekstraksiyonuyla elde edilir; ya da alternatif olarak yalnız çözücü ekstraksiyonuyla elde edilir. En yaygın kullanılan çözücü *n*-hekzandır, ayrıca kloroform-metanol karışımı da kullanılabilir. Genellikle *n*-hekzan kullanımı yüksek verime neden olmakla birlikte düşük protein kalitesi, yüksek yatırım ve enerji gereksinimleri gibi dezavantajları da vardır. Ayrıca *n*-hekzan, ekstraksiyon ve geri kazanılması işlemleri sırasında atmosfere yayılabilir ve diğer kirleticilerle etkileşime girerek çevreyi olumsuz yönde etkileyebilecek ozon ve fotokimyasal oksidanlar meydana getirebilir.

n-Hekzan kullanımına bağlı sorunları çözebilmek için, yenilebilir protein ve iyi kalitede yağ meydana getirebilecek sulu ve enzim katkılı ekstraksiyon prosesleri incelenmiştir. Sulu ekstraksiyon prosesi yüzdürme yöntemiyle geleneksel olarak birçok gelişmekte olan ülkelerde kullanılmıştır. Yağ ekstraksiyon verimini arttırmak, yan ürünleri azaltmak ve daha hafif proses koşullarında ekstraksiyonu ele almak için,

bazı enzimler, özellikle karbohidraz ve proteolitik enzimler, ekstraksiyon işleminde ilave edilmiştir.

Yüksek spesifite ve düşük proses sıcaklığı nedeniyle sıvıyağ endüstrisinde enzimatik sulu prosesi kullanılışlı bir yöntemdir. Çözücü ekstraksiyonu yöntemiyle karşılaştırıldığında enzimatik proses daha hafif koşullarda, örneğin düşük sıcaklıkta daha yüksek kalitede yağ ve proteince zengin küspe meydana gelir. Ancak bu prosesin bazı sınırlamaları vardır, başlıcaları; yağ ekstraksiyonunda düşük verim, demülsifikasyona neden olma, enzim maliyetleri ve sulu atık işlemleri.

Enzimatik sulu ekstraksiyon (ESE) birçok yağlı tohum ve meyveden yağ ekstrakte etmeye uygun bir şekilde uygulanmıştır. Bu teknoloji deneme bazında hindistan cevizi yağı, kolza yağı ve zeytinyağının ekstraktesinde başarılı bir şekilde geliştirilmiştir. Yağın ekstraktesi için enzimlerle işlem gören diğer yağ içeren önemli tohumlar; kavun çekirdeği, kanola, kakao yağı, *Jatropha curcas* tohumu, kayısı çekirdeği, pamuk tohumu, buğday, soya, pirinç kepeği, ayçiçek çekirdeği ve yerfıstığı.

Enzimatik sulu ekstraksiyon prosesi yağ eldesinde ve yağ içeren maddelerden diğer bileşenlerin eldesinde, özellikle çevre ve güvenlik faktörleri göz önüne alındığında önemli bir avantaj olabilmektedir. Birçok araştırmacı çeşitli yağlı tohumlardan ve meyvelerden yağın ekstraktesi için sulu prosesin gıda saflığındaki enzimlerle uygulamasını bildirmiştir. Esas itibariyle, enzim katkılı sulu ekstraksiyon prosesini kullanarak ekstraksiyon verimini arttırmak mümkündür. Elde edilen yağın kalitesinin, özellikle renk ve serbest yağ asidi içeriğine göre çok iyi olduğu bildirilmiştir. Ancak, deneme bazlı araştırmalar ele alınarak ekstraksiyon ve ayırma aşamaları hakkında prosesin ticari potansiyeli değerlendirilmelidir. Ayrıca, yağın eldesi aşamalarını kolaylaştırmak ve prosesi ticari olarak daha cazip hale getirebilmek için araştırmaların sürdürülmesi gereklidir.

Bu güne kadar pamuk yağının enzimatik sulu ekstraksiyonuyla eldesi hakkında çok fazla çalışma ve araştırma yapılmamıştır. Bu sebeple pamuk tohumundan ESE yöntemiyle ne kadar yağ elde edilebileceği ve çevre dostu ve ekonomik bir yöntemle kaliteli yağ üretimi hedeflenmiştir. Bu çalışmada pamuk tohumlarından sulu ortamda yüksek verimle yağ eldesi hedeflenmiştir.

Bu amaçla tohumların ekstraksiyonu su ile yapılmış ve suya hücre çeperlerini degrade edebilecek enzimler (proteaz, selüloz ve pektinaz enzimleri) ilave edilmiştir. Ekstraksiyon verimine reaksiyon parametrelerinin (pH, enzim cinsi ve miktarı, tanecik boyutu ve sürenin) etkisi incelenmiş ve reaksiyon parametreleri optimize edilmiştir.

2. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

2.1 Pamuk ve Pamuk Üretimi Hakkında Bilgi

Pamuk, Malvales takımından, Malvaceae familyasından, *Gossypium* cinsinden bir bitkidir. Kültür pamukları Herbacea ve Hirsuta olmak üzere iki grup altında incelenir. Eski dünya pamukları adı verilen, Herbacea grubunda *G. Arboreum* L. ve *G. Herbaceum* L. olmak üzere iki tür bulunmaktadır. Yeni dünya pamukları adı verilen Hirsuta grubunda ise *G. Hirsutum* L., *G. Barbadosense* L. ve *G. Tomentosum* L. türleri bulunur [1]. Pamuğun anavatanı konusunda tam bir kesinlik bulunmamakla birlikte Asya, Amerika ve Afrika'nın sıcak bölgelerinden Dünyaya yayıldığı tahmin edilmektedir.



Şekil 2.1: Pamuk bitkisi

Arkeolojik kanıtlar gerek Hindistan gerek Güney Amerika'da birbirinden bağımsız olarak 6000 ila 7000 yıl önce pamuğun değişik türlerinin tarımının yapıldığı ve giyimde kullanıldığını göstermektedir. Eski dünyaya pamuk Hindistan'daki Harappa uygarlığından gelmiştir. Mezopotamya'dan da Eski Mısır'a geçmiştir.

Pamuğun Arapça'daki ismi olan *kutun* ('al kutun') İngilizce'ye *cotton*, İspanyolca'ya *algodón* olarak geçmiştir [2]. Pamuk için Türkiye'de yerel olarak üreticilerin kullandığı 'pambuk','bambuk' adının da, bugün kuzey Suriye'de yer alan Manbij şehrinin (Hierapolis Bambyce veya Bambyke) başka dillerdeki değişik söylenişinden geldiği muhtemeldir.

Türkiye’de M.Ö. 330 yılına dek geriye giden uzun bir tarihçesi olmasına karşın asıl gelişmesini 11. yüzyılda Selçuklu Türkleri, 14. Yüzyılda Osmanlı Türkleri zamanında olmuştur. Türkiye Cumhuriyetin ilanından sonra ise pamuk tarımına büyük önem verilmiştir [3].

Pamuk bitkisi kök, sap, yaprak, çiçek ve tohumdan oluşmaktadır. Tür ve varyetesine göre 60 - 120 cm, ağaç halinde olanlar ise 5 - 6 m boylanabilir. Pamuk 30 - 100 cm derine, 50 - 80 cm yanlarına uzanan kazık köke sahiptir. Toprak yüzeyinin 8 - 10 cm altında ilk yan kökler meydana gelir Bunlar yatay olarak büyürler. Yan köklerin sayıları 3 - 4 tanedir. Her biri tekrar dallanarak etrafa yayılır. Epidermis hücrelerinin dışı doğru uzaması ile sayısız emici tüyler meydana gelir. Genel olarak kök toprakta dik olarak ya da bir süre sonra zigzag çizerek devam eder. Uygun koşullarda kök uzunluğu 1,5 m’ye kadar ulaşabilir.

Afrika’da, çok yıllık ağaç şeklinde olan pamuk çeşitleri de vardır. Pamuk gövdeleri dik, dallanmış ve çok tüylüdür. Yapraklar uzun saplı, parçalı ve tabanı kalp şeklindedir. Çiçekler saplı ve yaprakların koltuğunda tek tek bulunur. Dış çanak yaprakları üç parçalı, taç yaprakları ise beş serbest parçalıdır. Meyve, olgunlukta açılan veya kapalı kalan, 3 - 5 gözlü bir kapsüldür. Bu kapsüle koza da denir. Her gözde siyahımsı renkli, oval şekilli ve üzeri uzun, sık ve beyaz renkli tüylerle örtülü 5 - 10 tohum bulunur. Pamuk tohumu, etrafındaki bu tüy veya liflerle beraber ‘kütü’ adını alır.

Pamuk, alüvyonlu ve kuvvetli toprakları sever. Derin sürülmüş ve iyi gübrelenmiş topraklara ekilir. Ekim; sıcak bölgelerde şubat, soğuk bölgelerde mart-nisan aylarında yapılır. Ağustos ve eylülde hasat edilir. Pamuk için en büyük tehlike yağmurlardır. Yağmurlar, verimin ve kalitenin düşmesine sebep olur [4].

2.1.1 Pamuk tarımı

Pamuk bitkisi her türlü toprakta yetişebilen bir bitki olmakla birlikte, yüksek verim ve kaliteye ulaşabilmek için toprağın derin profilli ve alüviyal olması gerekir. Derin, kumlu-killi su tutma yeteneği yüksek geçirgenliği, işlenmesi ve sulanması kolay topraklar pamuk tarımı için ideal topraklardır [5].

Pamuk tarımında en önemli iklim faktörlerinin başında sıcaklık, gün ışığı, yağış ve oransal nem gelmektedir. Yıllık ortalama sıcaklığın 19 °C, yaz ayları sıcaklığı ise 25 °C olması gerekir.

Sıcaklık tarak oluşmasından önce 20 °C, çiçeklenme döneminde 25 °C, kozaların gelişme döneminde ise 30 - 32 °C olmalıdır. Hasat döneminde kozaların iyi açılabilmesi için sıcaklığın azalması (15 °C'ye kadar) istenir [7].

Tarlanın pamuk ekimine hazırlanması sürecinde ilk yapılacak işlemler tarla temizliği ve toprak altı işlemedir. Uzun yıllar pamuk yetiştirilen topraklarda zamanla pulluk altı ya da taban taşı denilen sert bir tabaka oluşur. Bu tabaka bitki köklerinin gelişmesine engel olacağı için kırılması gerekir. Bu iş için Subsoiler adı verilen aletler kullanılır. Bu aletle toprağın üst yapısı bozulmadan toprak 90 cm derinliğe kadar işlenir. Bu işlemi sonbahar ve kış sürümleri ile tohum yatağının hazırlanması işlemleri izler [5]. Eğer pamuktan sonra yeniden pamuk ekilecekse sonbahar aylarında saplar kesilip toprak 20 - 25 cm derinliğinde sürülmelidir. Tarla otlu ve toprak tavı da uygun ise kış aylarında sürüm işleminin tekrarlanması yararlıdır. Eğer tahıldan sonra pamuk ekilecekse hasadın ardından toprak tavlı iken hemen sürülmelidir. Pamuk tarımında son sürüm tohum yatağını hazırlamak için yapılan ilkbahar sürümüdür. Bu sürümde 15 cm derinlik genellikle yeterlidir. Yüksek verim ve kaliteli ürün elde etmek için genetik saflığı yüksek tohum kullanımı çok önemlidir.

Pamuğun ekim zamanı iklim koşullarına göre belirlenir. Ekim için toprak sıcaklığının 15 °C'nin üstünde olması gereklidir. Bölgelere göre ve yıldan yıla ekim zamanı değişiklik göstermekle birlikte, Çukurova Bölgesinde 25 Mart - 30 Nisan, Ege Bölgesinde ve Antalya yöresinde 15 Nisan - 15 Mayıs tarihleri genellikle en uygun ekim zamanıdır. Ekim işlemi elle serpmeye şeklinde ya da mibzerle sıraya yapılır. Ekim derinliği toprak koşullarına bağlı olmakla birlikte genellikle 3 - 4 cm'dir. Tohumun çimlenmesi normal koşullarda 5 ila 10 gün içinde gerçekleşir. Erken çimlenme sağlamak için tohum ekimden birkaç saat önce ıslatılmalıdır. Yetersiz çimlenme görülmesi durumunda hemen ikinci bir ekim yapılması önerilir [6].

Pamuk yetiştiriciliğinde bakım işleri seyreltme, çapalama ve uç almadır. Bitkinin iyi gelişmesini ve çabuk olgunlaşmasını sağlamak için seyreltme işleminin yapılması gerekir. Bitkiler henüz 4 yapraklı iken (yaklaşık 10 cm) 5 - 6 cm ara ile hafif bir seyreltme (tekleme) yapılır. Genellikle ilk seyreltme ilk çapa, ikinci (tam) seyreltme ise ikinci çapa ile birlikte yapılmalıdır.

Ekimden sonra görülen yabancı otların elle veya kazayağı ile çapalanarak yok edilmesi gerekir. Çapalama sayısı tarladaki yabancı ot durumuna göre değişir.

Kozalar açmaya başladıktan sonra bitkinin tepesinden 10 - 15 cm kısmının kırılmasına uç alma işlemi denir. Bu işlem geç ekilmiş veya fazla sulanmış tarlalarda uygulanır. Vegetatif gelişmesi normal olan bitkilerde uç almaya gerek yoktur [7].

Pamuk bitkisinin su ihtiyacı 400 ila 600 mm'dir. Pamuk yetiştirilen ülkelerde (bölgelerde) yıllık yağış miktarı genellikle yetersiz olduğundan, pamuk bitkisinin iyi gelişmesi için gereken su miktarı sulama yoluyla verilmelidir. Sulama pamuk üretiminde verimi etkileyen faktörlerin başında gelir. Sulama zamanı ve verilecek su miktarı bitkinin su isteği belirtilerine ve topraktaki nem durumuna bakarak saptanır. Sulama aralığı ve sulama sayısı, yetiştirilen pamuk çeşidine, toprak özelliklerine, taban suyu yüksekliğine, yağış miktarı ve dağılımına, vegetasyon dönemindeki sıcaklık ve havanın bağıl nemine bağlı olarak değişir. Ülkemizde yetiştirilen çeşitlerin orta bünyeli topraklarda ve normal iklim koşullarında genellikle 15 - 20 gün aralıklarla 4 - 5 kez sulanması uygundur. Sulama yöntemi olarak salma sulama, alttan sızdırma ve yağmurlama sulama yöntemleri kullanılabilir [7].

Yüksek bağıl nem ve sıcaklık, hastalık ve zararlıların ortaya çıkması için uygun bir ortam oluşturur. Bu nedenle Çukurova da 4 - 5 kez ilaçlama yapmak zorunluluğu ortaya çıkar [8].

Pamuk tarımında kullanılacak gübre miktarı, iklim ve toprak koşullarının yanı sıra, sulamaya, pamuk çeşidine göre değişir. Her şeyden önce kullanılacak gübre çeşidin ve miktarının belirlenmesinde toprak analizleri mutlaka yaptırılmalıdır [8].

Kozaların olgunlaşması ile pamuk hasadına başlanır. Hasat tarihi iklim koşullarına, ekim tarihine ve sulama koşullarına göre değişir. Bölgede hasat Ağustos sonlarında başlayıp Kasım başına kadar devam eder.

Pamuk hasadı 2 - 3 kez elle toplanarak yapılmasına rağmen iş gücü sıkıntısı, hasadın elle yapılmasını ekonomik olmaktan çıkarmıştır. Dolayısıyla pamuk hasadında mekanizasyona geçiş kaçınılmazdır. Son yıllarda makine ile hasada ait birçok çalışma ve uygulama yapılmaktadır [8].

2.1.2 Dünya’da ve Türkiye’de pamuk üretimi ve gelişimi

Pamuk bitkisi, yaygın ve zorunlu kullanım alanıyla insanlık açısından, yarattığı katma değer ve istihdam olanaklarıyla da üretici ülkeler açısından büyük ekonomik öneme sahiptir.

Artan nüfus, doğal elyafa olan ilginin giderek artması ve yaşam standardının yükselmesi, pamuk bitkisine olan talebi de arttırmaktadır [9].

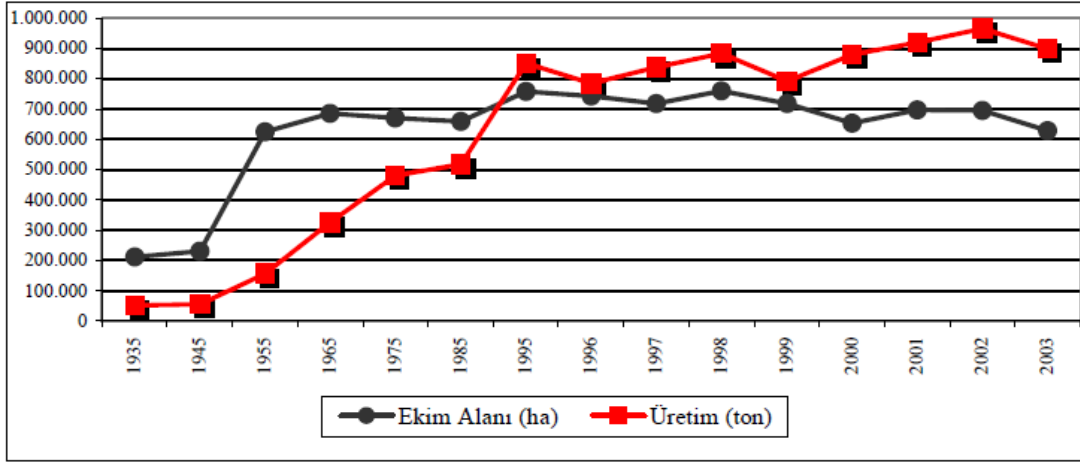
Pamuk, Dünya üzerinde çeşitli coğrafi bölgelerde yetiştirilmektedir. Bu bölgelerin başında Asya kıtası gelmekte, bu kıtayı Amerika ve Afrika kıtaları izlemektedir. Pamuk üretiminde önde gelen 6 ülke sırasıyla, Çin, ABD, Hindistan, Pakistan, Brezilya ve Türkiye’dir. Bu ülkeler Dünya’daki pamuğun % 75’ini üretmektedir [10].

Günümüzde, Türkiye, pamuk ekim alanı yönünden Dünya’da yedinci; birim alandan elde edilen lif pamuk verimi yönünden dördüncü; pamuk üretim miktarı yönünden altıncı; pamuk tüketimi yönünden altıncı; pamuk ithalat yönünden dördüncü ülke konumundadır [11]. Çizelge 2.1 ’den, Türkiye’nin pamuk üretim miktarı yönünden altıncı; tüketim yönünden dördüncü ülke konumunda olduğu görülmektedir.

Çizelge 2.1: Dünya pamuk üretim ve tüketim değerleri (2004 - 2011 / 1000 ton) [12]

	Ülke	04/05	05/06	06/07	07/08	08/09 Temmuz	09/10 Temmuz	10/11 Ağustos öngörü
Üretim	Çin	6750	6423	7729	8057	7796	7077	7186
	Amerika	5062	5201	4700	4183	2840	2654	4035
	Hindistan	4137	4148	4746	5357	4900	5117	5662
	Pakistan	2425	2213	2155	1938	1960	2134	2069
	Brezilya	1285	1023	1524	1557	1198	1274	1524
	Türkiye	904	773	849	675	457	381	501
	Diğer	4896	4634	3709	4482	4134	3607	4468
Toplam		25459	24415	25412	26249	23285	22244	25445
Tüketim	Çin	8382	9798	10866	11324	9854	10561	10888
	Hindistan	3222	3636	4006	3985	3865	4246	4442
	Pakistan	2286	2504	2722	2700	2504	2450	2526
	Türkiye	1546	1502	1589	1350	1067	1263	1307
	Amerika	1457	1278	1077	1004	773	740	740
	Brezilya	925	958	980	1002	915	958	1002
	Diğer	4048	3791	3769	5500	5050	5415	5416
Toplam		21866	23467	25029	26865	24028	25633	26321

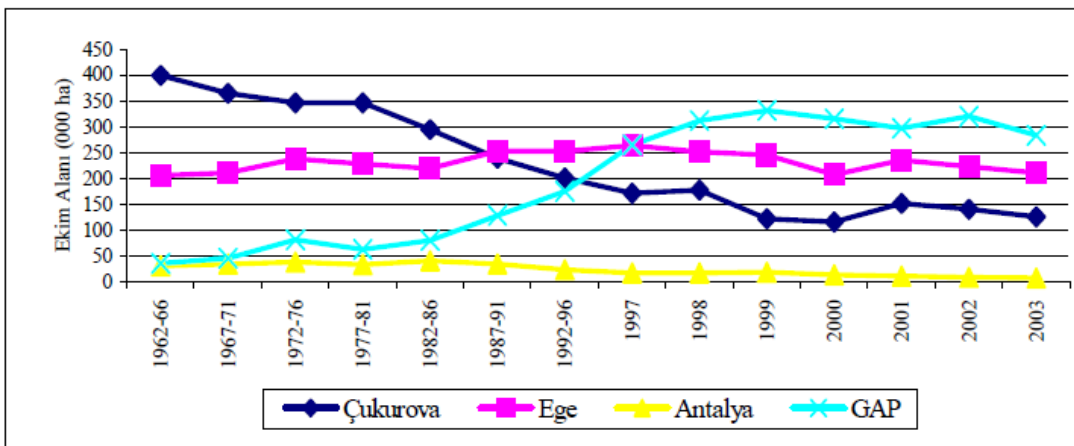
Türkiye’de, son 70 yıla ilişkin pamuk ekim alanı ve üretimindeki gelişmeler, Şekil 2.2 ’de verilmiştir [13,14].



Şekil 2.2: Türkiye’de yıllara göre pamuk ekim alanı ve üretimi

Şekil 2.2 ’den, üretimin, özellikle 1945’li yıllardan sonra hızlı bir yükselişe geçtiği; bu yükselişin, 1990 - 2000’li yıllar arasında yaklaşık 800.000 ton ile 900.000 ton arasında değişim gösterdiği; 2000’li yıllarda 900.000 tonun üstüne çıktığı; 2003 yılında ise bir azalışın olduğu dikkati çekmektedir. Pamuk ekim alanlarında önemli bir artış olmamasına karşın son yıllardaki pamuk üretim artışı, birim alandan elde edilen verim yüksekliğinden ileri gelmektedir.

Bölgelere ve yıllara göre pamuk ekim alanı değişimi, Şekil 2.3 ’te verilmiştir [13,15].



Şekil 2.3: Türkiye’de bölgelere göre pamuk ekim alanı

Şekil 2.3'ten, pamuk ekim alanlarının, 1960'lı yıllardan sonra, Çukurova bölgesinde sürekli bir düşüş gösterdiği (400.000 hektardan 130.000 hektara); GAP bölgesinde, özellikle 80'li yıllardan, 2000'li yıllara kadar hızlı bir artış trendi (80.000 hektardan 330.000 hektara) içinde olduğu; Ege bölgesinde, yıllara göre 200.000 - 260.000 hektar arasında değişim gösterdiği; Antalya bölgesinde ise, yine, özellikle 90'lı yıllardan sonra sürekli bir azalış (30.000 hektardan 8.000 hektara) eğilimi içinde olduğu dikkati çekmektedir.

Türkiye'de pamuk üretimi, genelde, Ege, Antalya, Çukurova ve Güneydoğu Anadolu bölgelerimizde yoğunlaşmıştır. Güneydoğu Anadolu Bölgesi, yaklaşık 300.000 hektardan fazla ekim alanı ve 400.000 tondan fazla lif üretimi ile, son yıllarda, Türkiye'nin en önemli pamuk üretim bölgesi konumuna gelmiştir. Ülke üretiminin yaklaşık % 50'si bu bölgeden karşılanmaktadır.

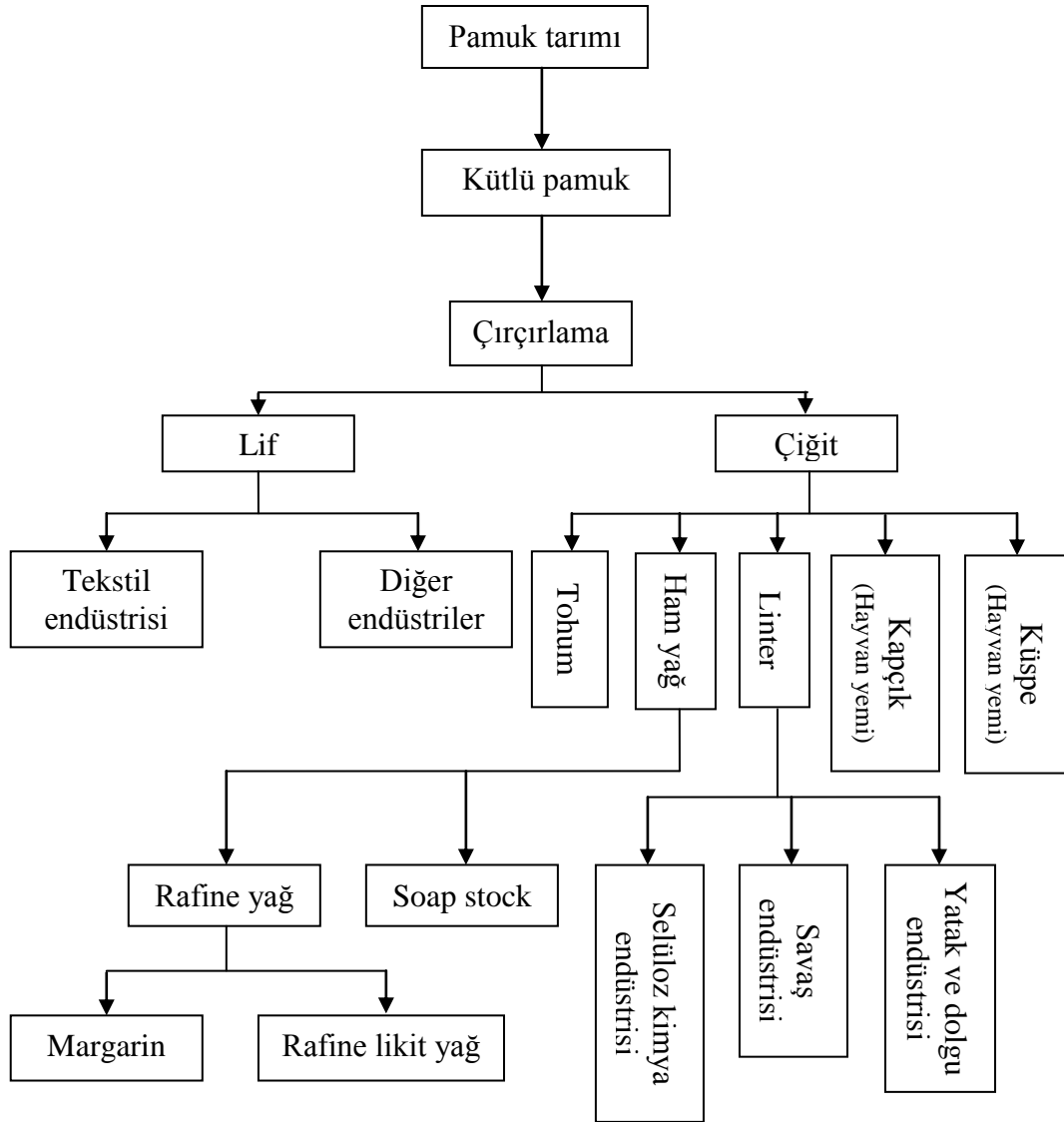
Türkiye'de yetiştirilen pamukların tamamı orta lifli pamuklar olup birçok çeşidi kullanılmaktadır. Yaygın olanları; Stoneville 453, Carolina Quin, Çukurova 1518, Sayar 314, Nazilli 84, Nazilli 87, Maraş/Erşan 92, Ege 7913 Carmen, Flora, Celia, Candia, Julia, Beyaz Altın 119, BA308, Diamond çeşididir [16].

Türkiye'de, oldukça güçlü bir pamuk üretimi yapılanması olmasına karşın, bu güçlü yapıyı olumsuz yönde etkileyebilen birçok sorunlar bulunmaktadır. Pamuk üretimini olumsuz yönde etkileyebilen ve çözümlenmesi gereken bu sorunlar, politikalara ilişkin sorunlar; pamuk tarımındaki üretim masraflarının yüksek olması; pamuk tarımında, çeşit, tohumluk ve üretim tekniği konularındaki sorunlar; pamuk hasadı, hasat sonrası (çırçırılama) ve yabancı madde sorunları; pamuk standardizasyon sistemindeki sorunlar; pamuk üretim ve işleme tekniği konusundaki eğitim yetersizliği; pamuk ile ilgili kesimler arasındaki iletişim ve işbirliği yetersizliği olarak özetlenebilir. Daha güçlü bir pamuk üretimi için bu sorunların çözümlenmesi zorunludur [17].

2.1.3 Pamuğun kullanım alanları

Endüstri bitkileri içinde lif ve yağ bitkilerinin her ikisine de giren pamuk, birçok sanayinin temel hammaddesini karşılayan önemli bir bitkidir. Lifi ile tekstil sanayinin, çekirdeğinden elde edilen pamuk yağı ile bitkisel yağ sanayinin, kapçık ve küspesi ile yem sanayinin, ayrıca lifleri ile de selüloz sanayinin hammaddesini teşkil etmektedir [18].

Aşağıdaki şekilde pamuğun kullanım alanları görülmektedir.



Şekil 2.4: Pamuğun kullanım alanları

2.2 Pamuk Yağı ve Üretim Değerleri Hakkında Bilgi

2.2.1 Pamuk yağı

Pamuk yağı; karakteristik tadı ve kokusu olan, oldukça koyu renkli (kırmızı-kahverengi) bir yağdır. Pamuk tohumlarından sıkma yoluyla elde edilir. Yerli pamuk tohumlarında % 30 - 40 arasında yağ bulunur. Ülkemizde pamuk yağı genellikle margarin hammaddesi katı yağ üretiminde kullanılmaktadır [19].

Pamuk yağı, yüksek sıcaklığa duyarlı bir renk maddesi olan gossipolü içermektedir. Yüksek sıcaklıklarda ise gossipol, koyu renkli ürünlere dönüşerek, açık renkli pamuk yağı üretimini güçleştirmektedir. Kimyasal rafinasyonda ise alkali nötralizasyonu sırasında bazik ortamda çözünen gossipol, oluşan sabun ile yağdan uzaklaştırılmakta, deodorizasyon işlemi sırasında sorun yaşanması böylece önlenmektedir.

Yağ oranı tür, çeşit ve lokasyonlara göre (kabuklu olarak) havlı tohumlarda % 17 - 24, havsız tohumlarda % 20 - 30; iç olarak ise % 33 - 42 arasında değişmektedir [20]. Tohumun protein içeriği ise; tür, çeşit ve çevre koşullarına göre kabuklu olarak % 20 - 40, iç olarak % 40 - 50 arasında değişebilmektedir. Tohum embriyosunda ortalama % 38 yağ ve % 39 protein bulunmaktadır [21]. Pamuk, yağ üretimi yönünden soya fasulyesi, palm, kolza ve ayçiçeğinden sonra besinci sırada, protein kaynağı olarak ise, soya fasulyesinden sonra ikinci sırada yer almaktadır.

Yan ürün olarak yağının değerlendirildiği pamuk çekirdeğinin ve küspesinin kompozisyonu Çizelge 2.2 'de verilmiştir [22].

Çizelge 2.2: Pamuk çekirdeğinin ve küspesinin kompozisyonu [22]

Bileşenler	Kabuklu çekirdek	Kabuksuz çekirdek
Nem (%)	9,9	6,9
Yağ (%)	17 – 26	33 – 42
Protein (N x 6,25) (%)	19,4	30,3
Ham Lif (%)	22,6	4,8
Kül (%)	4,7	6,9

Pamuk yağı % 13 - 44 oleik ve % 33 - 58 linoleik asit içerdiği için oleik-linoleik asit grubu yağlar arasında yer almaktadır. En önemli doymuş yağ asidi ise % 17 - 29 oranındaki palmitik asittir. Pamuk çekirdeği yağının bazı karakteristik özellikleri Çizelge 2.3 'te, yağ asidi ve trigliserid kompozisyonları Çizelge 2.4 'te verilmiştir [23,24].

Çizelge 2.3: Pamuk yağının bazı karakteristik özellikleri [23]

Analizler	Değerler
Bağıl yoğunluk 20 °C	0,918 - 0,926
Özgül ağırlık, 20 °C	0,9147 – 0,9320
Kırılma indisi, 25 °C	1,4636 – 1,4698
Uçucu madde, 105 °C'de, % , en çok	0,2
Çözünmeyen safsızlıklar, % , en çok	0,05
İyot sayısı	100 – 123
Serbest yağ asitleri, % , en çok	0,3
Asit sayısı, mg KOH/g, en çok	0,6
Peroksit sayısı, milieşdeğer O ₂ /kg, en çok	10
Lovibond sarı renk değeri (5 ¼")	30 - 35
Lovibond kırmızı renk değeri (5 ¼")	4,0 – 10,7
Sabunlaşma sayısı	189 - 198
Sabunlaşmayan madde miktarı, %	0,5 – 1,5

Çizelge 2.4: Pamuk çekirdeği yağının yağ asidi ve trigliseridi kompozisyonları [24]

Yağ Asitleri	Bileşim (%)
Laurik (12:0)	0,2
Miristik (14:0)	0,5 – 2,0
Palmitik (16:0)	17 – 29
Palmitoleik (16:1)	0,5 – 1,5
Stearik (18:0)	1,0 – 4,0
Oleik (18:1)	13 – 44
Linoleik (18:2)	33 – 58
Linolenik (18:3)	0,1 – 2,1
Araşidik (20:0)	< 0,5
Behenik (22:0)	< 0,5
Erusik (22:1)	0,3
Lignoserik (24:0)	< 0,5

Gliseridler	(% Mol)
SLL	22,5
LLL	13,0
SLS	12,4
SOL	9,4
SLO	8,4
LOL	6,5
OLL	6,4

S: doymuş yağ asidi, O: oleik asit, L: linoleik asit

Bitkisel kaynaklı yağların sabunlaşmayan maddeleri arasında yer alan en önemli bileşen, antioksidan etkisi nedeniyle tokoferollerdir. Ham pamuk yağı doğal tokoferollerce oldukça zengin bir yağdır. Ancak doğal tokoferoller rafinasyon işlemi sırasında tahrip oldukları için ham pamuk yağının, rafine pamuk yağı ile karşılaştırıldığında oksidasyon stabilitesi daha yüksektir. Ham pamuk yağı toplam % 0.110 oranında tokoferol içerirken, rafine pamuk yağı % 0.087 - 0.095 oranında tokoferol içermektedir. Ham pamuk yağındaki toplam tokoferollerin % 0.076' sı α - tokoferol, % 0.034' ü ise γ - tokoferoldür. 300 mg/kg oranında α - tokoferol içeren rafine pamuk yağının 97 °C sıcaklıktaki indüksiyon periyodu 3 saat olarak belirtilmektedir.

Yağın sabunlaşmayan bileşenlerinden sterollerin ham pamuk yağındaki miktarı 0.574 mg/100 mg yağ olarak belirtilmektedir. Bu miktar rafinasyon işlemi ile 0.397 mg/100 mg yağ değerine düşürülmektedir. Sterollerin; % 93' ünü β - sitosterol, % 4' ünü campesterol, % 2' sini Δ^5 - avenasterol, % 1' ini stigmasterol oluşturmaktadır.

Pamuk yağının viskozitesinin sıcaklıkla değişiminin ifade edildiği, 20 - 75 °C arasındaki sıcaklıklarda kullanılabilen ve Ilıcalı tarafından türetilen Arrhenius eşitliği aşağıda verilmiştir [25]:

$$\eta = 8,7 \times 10^{-4} e^{3300/T}$$

2.2.2 Dünya'da ve Türkiye'de pamuk yağı üretimi

Dünya pamuk yağı üretiminde rol oynayan en büyük dört ülke, 2008/09 (hasat yılı) döneminde, Çin (% 32), Hindistan (% 24), Amerika (% 8) ve Türkiye (% 3)' dir.

Pamuk yağının ticareti daha çok tek noktada toplanmıştır. Tek başına, Amerika dünya pamuk yağı ithalatının % 45'ten fazlasını karşılamaktadır. Amerika'dan sonra ikinci en büyük ithalatçı ülke dünya ithalatının % 5 - % 6'sını karşılayan Çin'dir.

Çizelge 2.5 'te dünyada bitkisel yağ üretim miktarları verilmiştir. Miktar açısından pamuk yağı beşinci sıradadır.

Çizelge 2.5: Dünya’da bitkisel yağ üretim miktarları (milyon metrik ton)

Bitkisel yağlar	2004/05	2005/06	2006/07	2007/08
Palm	33,5	36,0	37,4	41,3
Soya	32,6	34,6	36,3	37,5
Kolza	15,7	17,2	17,1	18,2
Ayçiçek	9,2	10,6	10,6	9,9
Pamuk	4,8	4,6	4,9	5,0
Yer fıstığı	5,1	5,0	4,5	4,8
Palm içi	4,2	4,4	4,5	4,9
Hindistan cevizi	3,4	3,5	3,3	3,5
Zeytinyağı	3,0	2,7	2,9	2,8
Toplam	111,5	118,6	121,5	127,9

Çizelge 2.6 ’da bazı rafine yağların Türkiye'deki üretim miktarları verilmiştir. Çizelge 2.6 'da görüldüğü gibi ülkemizde, 2001 yılında rafine yağ üretimi açısından ayçiçeği 389881 ton, çığit 38302 ton ve zeytin 36919 ton'dur.

Çizelge 2.6: Türkiye’de bazı rafine yağların üretim durumları [26]

Yıllar	Rafine yağlar (ton)		
	Ayçiçek	Pamuk	Zeytin
1997	517181	20546	25159
1998	469964	27522	31353
1999	371832	27294	33384
2000	434963	35560	20407
2001	389881	38302	36919

Türkiye'nin bitkisel yağ tüketimi kişi başına milli gelirimize bağlı olarak yıllar içerisinde dalgalanmalar göstermektedir. Çizelge 2.7 'de Türkiye'nin rafine sıvı yağ ve kişi başına yıllık bitkisel yağ tüketimi verilmiştir.

Çizelge 2.7: Türkiye’de kişi başına bitkisel yağ tüketimi [27]

Rafine sıvı yağ (kg/kişi/yüz.)	1999	2000	2001	2002
Ayçiçeği	7,2	9,1	8,7	8,0
Soya	0,1	0,2	0,4	0,3
Pamuk	0,2	0,5	0,4	0,4
Mısırözü	0,8	1,2	1,3	1,2
Kolza	0,1	0,4	0,6	0,5
Zeytin	1,3	1,2	1,1	1,2
Toplam sıvı yağ	9,7	12,6	12,5	11,6

Türkiye'nin pamuk yağı ihracatındaki durumu Çizelge 2.8 'de verilmiştir.

Çizelge 2.8: Yıllara göre Türkiye pamuk yağı ihracatı [28]

Yıllar	Bitkisel yağ (ton)			
	Ham pamuk yağı	Rafine pamuk yağı	Ambalajlı pamuk yağı	Toplam pamuk yağı
1997	1227	6519	2125	9871
1998	831	15570	369	16770
1999	77	4200	42	4319
2000	0	4144	1	4145
2001	3	2709	71	2783

2.3 Bitkisel Yağ Eldesi ve Rafinasyonu

2.3.1 Ön işlemler

Yağlı tohumlardan yağ eldesine başlamadan önce tohumlar bazı ön işlemlerden geçirilir. Genel olarak tohumların temizlenmesi, tohumun yapısal farklılığından dolayı uygulanması gereken bir kısım işlemler ve uygulanacak yağ alma yönteminin gerektirdiği hazırlıklar ön işlemleri teşkil eder.



Şekil 2.5: Magnetik ayırıcı (soldaki) ve çöp sensörü.

Ön işlemleri; temizleme, pamuk tohumu için linterleme, tohumun nemlendirilmesi, kabuk kırma ve ayırma, pulcuk haline getirme ve kavurma olarak sayabiliriz. İnsanlar tarafından çeşitli şekillerde tüketilen bitkisel kaynaklı bütün gıdaların işlenmesinde uygulanan aşamalardan ilki genellikle hammaddenin temizlenmesidir. Hammadde çoğu zaman farklı oranlarda taş, toprak, kum, metal parçaları, bitkisel kalıntılar vb. yabancı maddeler içerir.



Şekil 2.6: Taş ayırıcı

Yağlı tohumlardaki yabancı maddeler, irilik, şekil, yoğunluk ve mıknatıslık özelliklerinden yararlanarak çalışan sistemler kullanılarak uzaklaştırılmaktadır.

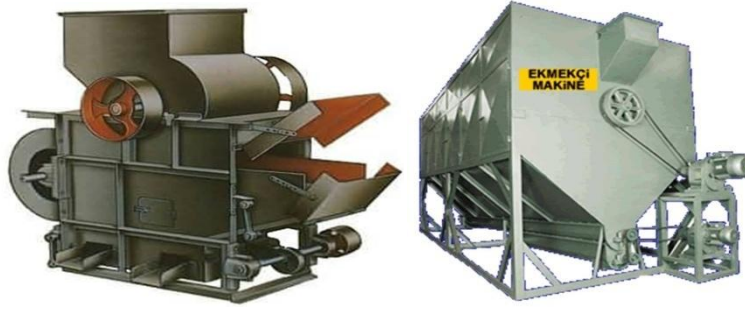
Elekler, triyörler, pnömatik (havalı) ayırıcılar, mıknatis sistemi, linterleme makinaları (pamuk tohumunu liflerinden ayırmada), fırçalama makinaları yağlı tohumların temizlenmesinde kullanılan başlıca sistemlerdir. Aşağıda bu sistemlerin tohumun hangi özelliğinden yola çıkılarak oluşturulduğu açıklanmıştır [29].

Elekler: İrilik esasına göre ayırma.

Triyörler: Şekil farkından faydalanarak ayırma.

Pnömatik ayırıcılar: Yoğunluk farkından yola çıkılarak ayırma.

Mıknatis sistemi: Yağlı tohumlar içinde bulunması muhtemel olan ve tesislerde yer alan makinalara zarar verme olasılığı bulunan metal parçalarını mıknatıslık özelliğinden yola çıkarak ayırma.



Şekil 2.7: Kabuk ayırma makinesi (soldaki) ve elek türleri.

Yağlı tohumların nemlendirilmesi

Yağlı tohumlarda kabuk kırma ve ayırma, pulcuklandırma, kavurma gibi işlemlerin daha kolay uygulanabilmesi için tohumun nem oranının % 16-18 olması gerekmektedir. Bu nedenle yağlı tohumların istenen nem derecesine getirilebilmeleri için aşağıda belirtildiği şekilde nemlendirilmeleri gerekmektedir [29].

- * Tohuma verilen su, homojen bir dağılım sağlamak için püskürtme şeklinde verilmelidir.
- * Tohumun suyla temas süresi mümkün olduğunca uzun tutulmalıdır. Eğer yığında zedelenmiş tohum miktarı yüksek değilse bu süre 3 - 4 gün olabilir.
- * Nemlendirmeden sonra tohumun yüzeyinde su kalmamalıdır.
- * Nemlendirilmiş tohumlar çabuk bozulacağı için hemen yağa işlenmelidir.

Kabuk kırma ve ayırma



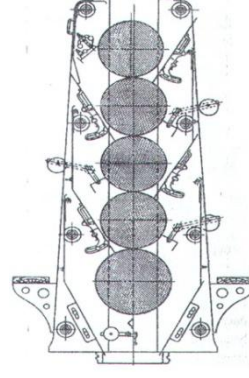
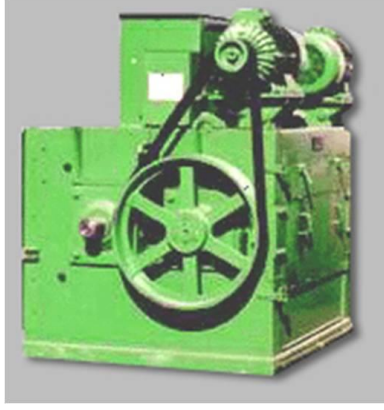
Şekil 2.8: Kabuk kırma makinesi

Kabuk % 1 yağ içermesi, protein içeriğinin ise çok düşük olması nedeniyle tohumdan uzaklaştırılması gerekmektedir. Kabuğun tohumla uzun süre temas halinde bulunması, presleme sırasında kabuk tarafından emilen yağın geri kazanılamaması nedeniyle yağ kaybına, çözgen ekstraksiyonu sırasında kabuğun renk, tat ve koku maddeleri de çözüldüğünden yağın kalitesinin bozulmasına, presleme sırasında pres kapasitesinin düşmesine neden olduğundan kabuk kırma ve ayırma işlemi önem arz etmektedir.

Yabancı maddelerden ayrılıp temizlenen tohumlar özel kırıcılarda santrifüj çarpma yöntemiyle kırılırlar. Silindirik sabit bir gövde içinde dakikada 600-650 devirle dönen paletlerden oluşan bir tambur üstten gelen tohumları cidara savurarak çarptırır. Silindirik gövdenin içi setlerle ve çentiklerle kaplıdır. Kırma işlemi cidar ile tamburun mesafesi ayarlanarak yapılır. Çarpama sonucu tohumların bir kısmı bütün, bir kısmı parçalanmış halde kabuklarından ayrılır. Pamuk tohumu, ayçiçeği ve yerfıstığı gibi esnek kabuklarla kaplı yağlı tohumların kabuklarının soyulmasında bar ve disk kabuk soyucular kullanılır.

Keten tohumu, kolza ve susam gibi çok küçük hacimli yağlı tohumlarda kabuk soyma işlemi çok zor olduğundan uygulanmaz. Kabuk soyma makinaları her yağlı tohumun özelliğine göre düzenlenmiştir [30].

İç (badem) ve kabuk bir elekten geçirilerek parçalanmış, ufalanmış olanlar ayrılır. İri kabuklar hava akımıyla emilir. Kabukların tamamının alınması istenmez. Örneğin ayçiçeğinde % 70 kabuk kalması istenir. Çünkü presleme işleminde kabuklar yardımcı olur.



Şekil 2.9: Kabuk kırma valsleri ve ünitesi

Ayrılan kabuklar yan ürün olarak satılır. Burada belirtilmesi gereken bir husus, kabukların presleme sırasında olumlu katkısının olduğunu ifade etmiş olduğu halde, kabukların presleme kapasitesini düşürdüğünü ileri sürmüştür. Kabukların fiziksel özelliklerinin farklılıkları dikkate alındığında her iki görüşün de farklı tohumlar için doğruluğu saptanabilir.

Tohum içinin (bademin) ezilmesi

Pulcuklandırma işlemiyle yağ hapseden hücre ve dokular, parçalanarak yağın kendiliğinden dışarı akışı sağlanır. Pulcuklandırma işlemiyle hem hücre içindeki yağın dışarıya sızma alanı genişletilmiş, hem de yağ çıkışına karşı tohum yapısının gösterdiği direnç azaltılmış olmaktadır. Özellikle çözgen ekstraksiyonunda çözgenin içe difüzyonu kolaylaşmakta, bu da ekstraksiyon hızını artırmaktadır [29].

Tohumların kavrulması

Yağlı tohumların yağ verimlerini artırmak ve küspenin daha iyi değerlendirilmesini sağlamak için kavrulması gerekir. Sıcaklık uygulanarak yağın viskozitesi azaltılıp, akıcılığı artırılır. Hücre proteinleri koagüle edilerek, hücre zarlarına gevreklik verilerek yağın hücreden kolayca çıkması sağlanır.

Tohumdaki su oranı % 7 – 8 'den % 4 - 4,5 'e düşürülür. Kavurma işlemi küçük işletmelerde doğrudan ateşle ısıtılan tek katlı tavalarda, büyük ve modern işletmelerde ise 4-5 katlı tavalarda yapılmaktadır. Tavalara alınan tohum önce 15 - 20 dakika ısıtılır ve üzerine su buharı veya sıcak su püskürtülüp nemi % 16 - 18' e çıkartılır. Tohum sıcaklığı 80-90 °C' ye çıkartılarak kavurma işlemine geçilir. 20 - 30 dakika kavruktan tohumun proteinleri koagüle edilmiştir. Daha sonra 110 - 115 °C sıcaklıkta nem oranı % 4 - 4,5 'e düşürülür, pres veya ekstraktöre sevk edilir [31].



Şekil 2.10: Dört aşamalı pişirme tankı.

2.3.2 Mekanik presleme yöntemi ile bitkisel yağ üretimi

Mekanik presleme işlemi; katı-sıvı faz ayırım yöntemi olarak tanımlanabilir. Genellikle yağ oranı % 20 'den daha yüksek olan yağlı tohumların ham yağa işlenmesinde mekanik presleme yöntemi kullanılabilir. Mekanik presleme işlemi sonucu esas ürün olarak ham yağ, yan ürün olarak yağı alınmış küspe elde edilmektedir.

Mekanik presleme işleminde kesikli çalışan hidrolik presler, sürekli vidalı presler ve döner presler kullanılabilir [25].



Şekil 2.11: Filtre pres (soldaki) ve helezon pres (sağdaki).

2.3.3 Çözücü ekstraksiyonu yöntemi ile bitkisel yağ üretimi

Çözücü ekstraksiyonun temeli yağın içinde çözündüğü bir organik çözücü ile yağlı tohumu muamele edip yağın tohuma geçmesi sağlanır. Sonra çözücü süzülerek ayrılıp, uçurular ve geriye ham yağ kalır. Pres yöntemine göre üstünlüğü küspede en fazla % 1 oranında yağ kalır ve çoğunlukla % 0,5 civarında bulunmaktadır. Bu yöntemle yağ elde etme özellikle yağ miktarı düşük olan soya ve çığıt gibi yağlı tohumlarda kullanılmaktadır. Yağ çözücü olarak birçok organik madde kullanılmakla birlikte günümüzde Türkiye ve dünyada en yaygın kullanılan kaynama noktası 64 - 68 °C olan hekzandır [25].

2.3.4 Bitkisel yağ rafinasyonu

Rafinasyon işlemini kısaca berrak ve normal tatta yağ elde etmek için ham yağda bulunan ve istenmeyen tüm maddelerin yağdan uzaklaştırılması olarak tanımlayabiliriz.

Ham yağlar ne kadar özenli ve temiz elde edilirse edilsin mutlaka rafine edilmelidir. Çünkü tüketici açık renkli, kokusuz, serbest yağ asidi bulunmayan ve berrak yağ satın almak ister. Rafine edilmeden tüketilen tek bitkisel yağ, iyi kalite zeytinlerden elde edilen zeytinyağıdır. Fakat kötü vasıfta olan zeytinyağları da rafine edilir. Türkiye'nin kırsal kesiminde ayçiçeği, susam, haşhaş vb. gibi hammaddelerden elde edilen yağlar yerel halk tarafından rafine edilmeden tüketilir. Müsilaj giderme, asit giderme, ağartma, koku giderme ve vinterizasyon rafinasyon işleminin aşamalarıdır [32].

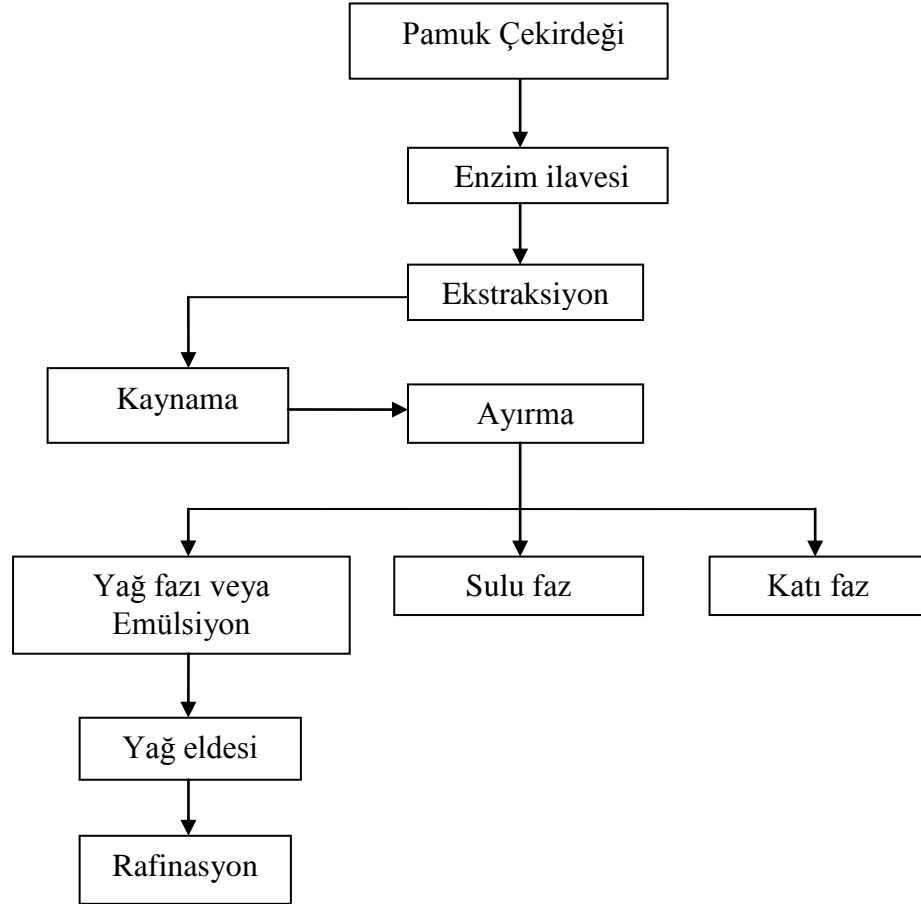
2.4 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Yöntemi

Yağlı tohumlardan yağ çıkarmada organik çözücülerin kullanılması güvenlik açısından tehlike yarattığından, çözücü olarak su kullanımı denenmiş, ancak, düşük yağ verimi nedeniyle ilk denemeler başarısızlıkla sonuçlanmıştır. Buna rağmen çevresel açıdan daha temiz bir yöntem olduğundan, sulu ekstraksiyona ilgi devam etmiştir. Diğer bir neden olarak su kullanımının diğer yenilenebilir çözücülere (alkol ve süperkritik akışkanlar) göre en ekonomik ekstrakt çözücüsü olarak toksik çözücülerin yerini almasıdır [33]. Sulu ekstraksiyon (SE), yangın ve patlama riski de içermediğinden soğuk presleme ve çözücü ekstraksiyonu yöntemlerinden daha avantajlıdır.

İşlem daha güvenli çalışma olanağı sunması, daha düşük ilk yatırım masrafı gerektirmesi ve farklı tohumlarla çalışılabilmesi açısından daha esnek bir çözümdür. İlimli işletme koşulları, rafine edilmeyi gerektirmeyen yağ eldesini ve zehirsiz gıda üretimini olanaklı kılar. Öte yandan, sulu ekstraksiyonda çözücü ekstraksiyona göre verim düşüklüğü gibi bir sorun söz konusudur.

Bitkilerin hücre duvarlarının egzojen (dışsal) enzimlerle yıkılması hücre içerisindeki komponentlerin daha kolay salınımına olanak sağlamaktadır. Bitki hücreleri kofullar içerisinde yağ barındırırlar, böylece bu yağın ekstraksiyon verimi hücre duvarına etkileyen karbohidrazların ve proteazların hidrolitik müdahalesi ile artırılabilir *Enzim destekli sulu ekstraksiyon* ifadesi de buradan gelir, özetle, öğütülmüş tohuma enzimle müdahale ederek hücre duvarı yıkımı sağlanır ki, bu sayede, su ile ekstraksiyon işlemi kolaylaşır [34].

Pamuk çekirdeklerine uygulanabilecek enzimatik sulu ekstraksiyonun şematik gösterimi aşağıdaki gibidir:



Şekil 2.12: Pamuk tohumunun enzimatik sulu yağ ekstraksiyonu blok diyagramı.

ESE’de birçok faktör verim ve ürün kalitesini etkiliyor. Enzimin görevini yapması için, ekstraksiyon koşulları enzimin tavsiye edilen kullanımına uygun olması gerekir. Birçok araştırmacı tarafından rapor edilen ekstraksiyonu etkileyen başlıca faktörler; enzim bileşimi ve konsantrasyonu, yağlı çekirdeğin boyutu, katı-sıvı oranı, inkübasyon sıcaklığı, tampon çözelti pH’ı, çalkalama hızı ve inkübasyon zamanı [35].

Ekstraksiyon sonrası yağı ayırabilmek için, birçok çalışmada santrifüj kullanılması gerekliliği ortaya çıkmıştır. Genellikle ekstraksiyon sonrası karışımlar 1519 ile 16,000 g arasında santrifüj edildiğinde dört faza ayrılır: yağ, krema, sulu ve katı faz tabakaları. Yağın ayrılması için ekstraksiyon karışımına sıcak su ilave edilerek sıcak suda yağı yüzdürme de yapılabilir. Bu yöntemde emülsiyon tabakası üst yüzeye çıkar, oradan alınır ve hafifçe kaynatılarak emülsiyon kırılır. Ve son olarak yağ tabakası dekante edilir [35].

Emülsifiyon giderme ve ürün eldesi aşamaları esas itibariyle sulu ve enzimatik ekstraksiyonun gerçekleştirilebilirliğini belirler. Ekstraksiyon sırasında emülsiyon oluşursa, yağı çıkarmak için emülsiyon kırılmalıdır. Önceden bahsettiğimiz üzere emülsiyon kırılması birçok yöntemle yapılabilir. Yağdaki emülsiyonlar *n*-hekzan ile ekstraksiyon yapılarak da ayrılabilir. Ayrıca dondurma ve eritme yapılarak da emülsiyon kırılabilir. Esas itibariyle, emülsiyondaki yağ kürecikleri birleşerek daha büyük damlacıklar oluştururlar ve böylece santrifüjde ayrılması daha kolay olur [35].

Birçok araştırmada enzimatik sulu ekstraksiyonla elde edilen yağın çok kaliteli olduğu ortaya konmuştur. Denemeler ESE ile edilen yağın renginin çözücü ekstraksiyonu ile edilen ham yağın renginden daha açık olduğunu göstermiştir. Örneğin hindistan cevizinden elde edilen yağ yeterince berraktır, bu nedenle daha fazla rafinasyona gerek yoktur. Bir araştırmada enzimatik ekstraksiyonla elde edilen mısır yağındaki serbest yağ asidi, peroksit ve diğer oksidasyon ürünleri *n*-hekzan ekstraksiyonu ile edilen yağ ile aynı değer aralığında olduğu görülmüştür [35].

Enzimatik ekstraksiyonla düşük fosfatid içerikli, oldukça kararlı ve ayrıca daha düşük seviyede renkli madde içeren ürünler elde edilebilmektedir. Bu nedenle saflaştırma için daha az ağartma toprağına ihtiyaç duyulmaktadır. Christensen, enzimatik ekstraksiyon prosesiyle elde edilen zeytinyağının depolama stabilitesinin geleneksel sıkma yöntemine göre oldukça iyi olduğunu belirtmiştir [35].

Enzimatik sulu ekstraksiyon ve çözücü ekstraksiyon proseslerinin çözücü kullanımı, maliyet, yağ verimi, ürün ve çevreye olan etkisi açısından birçok avantaj ve dezavantajları vardır. Yağın ekstraksiyonunda sulu enzimatik prosesinin uygulanmasının geleneksel çözücü ekstraksiyona kıyasla avantajları çevre dostu olması ve hava kirletici olarak uçucu organik bileşikler vermemesidir. Çözücü tüketimi ortadan kalkar ve yatırım maliyeti ile enerji gereksiniminin düşmesi sağlanabilir. Ayrıca bu yöntem yağlı tohumlardan aynı anda yağ ve protein eldesine olanak sağlayabilir.

Geleneksel ekstraksiyon yöntemi kullanıldığında glukosinolat, tanin, sinapın ve fitik asidi yağın içinde kalır. ESE’de bu istenmeyen maddeler yağın içinde oldukça düşük bulunur. ESE prosesinde müsülaj giderme (degumming) işlemine olan gereksinim de azalmıştır ve bu proses ile bazı toksin maddeleri ve besleyici olmayan bileşimlerin yağdan uzaklaştırılmasını da sağlanabilir [36].

Diğer yandan, yöntemin başlıca dezavantajları düşük yağ verimi, yağ eldesi kademelerinin daha komplike olması ve önemli miktarda atıksu üretmesi’dir. Atıksu ve enerji tüketimini azaltmak için, ekstraksiyonda kullanılan su geri kazanılabilir ve tekrar kullanılabilir hale getirilmesi yapılmalıdır. Suyun sirkülasyonu ile enzimin geri kazanılması da enzimin maliyetini azaltabilir. Ancak enzimin geri kazanılması ve tekrar kullanılabilmesi için proses sırasında enzim aktivitesinin önemli oranda azalmamış olması gerekir. Bir diğer dezavantaj da uzun proses zamanına ihtiyaç duyulmasıdır [35,36].

Enzim katkılı sulu ekstraksiyonun ekonomikliğinin incelendiği bir çalışmada çözücü ekstraksiyonu tesislerine göre bu prosesin kurulum maliyeti daha yüksek bulunmuştur. Bu çalışmaya göre eğer piyasa değeri yüksek bir yağ eldesi söz konusu ise, enzimatik ekstraksiyon prosesi geleneksel olan yöntemle kolaylıkla rekabet edebilir ve eğer immobilize enzimler ile çalışılabilirse enzim maliyeti oldukça düşürülebilir [37].

2.5 Literatürde Enzimatik Sulu Ekstraksiyon Üzerine Yapılmış Çalışmalar

Literatürde enzimatik ekstraksiyon ile çeşitli enzimlerin kullanılarak birçok bitki ve yağlı tohumlarından yağın eldesi üzerine çalışmalar bulunmaktadır.

Nyam [38] bir araştırmasında Kalahari kavunu çekirdeklerinin enzimatik sulu ekstraksiyonunda Flavourzyme 1000L ve Nötraz 0,8L enzimlerini ayrı ayrı kullanmıştır. Ekstrakte edilen yağların erime noktalarının $-18,7\text{ }^{\circ}\text{C}$ ile $-17,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ arasında olduğunu ve çözücü ekstraksiyonu ve enzimatik sulu ekstraksiyonu ile elde edilen yağların erime noktaları arasında önemli bir fark olmadığını gözlemlemiştir. Enzim ekstraksiyonu ile elde edilen yağın rengi çözücü ekstraksiyonuyla elde edilen yağa göre daha hafif ve daha sarı renkte olduğu saptanmıştır. Bu yağın fenolik asit değerinin çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen yağ ile yakın değerinde olduğunu da tespit etmiştir.

Ghodsvali ve arkadaşları [39] üç ayrı zeytin cinsi ile yağ ekstraksiyonunda Pectinex Ultra SP-L ve Pectinex 1,6021 enzimlerinin naturel zeytinyağı özelliklerine (renk, bulanıklık, yağın toplam polifenol değeri, asitlik, peroksit ve iyot değerine) olan etkilerini izlemiştir. Olumlu sonuçlar elde etmiştir.

Dominguez ve çalışma arkadaşları [36] soya yağının ekstraksiyonunda, enzim-yagli tohum oranı, soya-su oranı, inkübasyon zamanının da yağın verimi üzerine önemli bir etkisinin olduğu ve en uygun zaman aralığının 6 saat olduğu görülmüştür. Tanecik boyutunun $< 1\text{ mm}$ 'den küçük olduğunda enzimin hücre duvarına erişmesinin daha iyi olduğu için daha yüksek yağ verimi elde edilmiştir. Selüloz ve hemiselüloz'dan oluşan karışımın kullanımında en yüksek verim olarak % 44'lere erişilebileceği ortaya konmuştur.

Rosenthal ve çalışma arkadaşları [37] yağ ve protein ekstraksiyonu verimlerini daha da ilerleterek soya verimini Proteaz (Alkalaz) enzimini kullanarak sırasıyla % 58 ve % 67'ye çıkarmıştır. Elde edilen bu verimler selüloz, hemiselüloz ve pektinaz enzimleri ayrı ayrı kullanıldıklarında elde edilen verimlerden daha yüksek çıkmıştır.

Tano-Debrah ve çalışma arkadaşları [40] proteaz ve selüloz ile hemiselüloz'dan oluşan karışım hazırlayarak Shea çekirdeğinden yağ ekstrakte etmeyi denediğinde yağ veriminin % 72'ye çıktığını ve çıkan sonucu enzimsiz ekstraksiyon ile elde edilen yağ verimiyle (% 48) karşılaştırmıştır.

Optimum koşulların; enzim konsantrasyonunun % 1, tohum-su oranının 1:2 ve inkübasyon sıcaklığının 30 °C (4 saat için) olduğunu vurgulamıştır. Seyreltme oranı da, tohum-su oranı, enzimatik proses için önemlidir çünkü enzimin davranışını, enzimin difüzyonunu ve hidroliz ürünlerini etkilemektedir.

Hanmoungjai ve çalışma arkadaşları [41] enzimatik sulu proses ile elde edilen ham pirinç kepeğinin serbest yağ asidi değerinin çözücü ekstraksiyonuyla elde edilen ham yağa göre oldukça düşük olduğunu ortaya koymuştur. Bu nedenle rafinaj aşamalarında düşük miktarlarda nötrleştirme etkisi gereklidir. Ayrıca, enzim ekstraksiyle elde edilen pirinç kepeği yağındaki başlıca yağ asitlerinin bileşimleri çözücü ekstraksiyle elde edilen yağ ile yakın değerdendirler.

Hanmoungjai ve çalışma arkadaşları [41,42] ticari enzimler kullanarak pirinç kepeğindeki yağ ve protein ekstraksiyonunu incelemiştir. Ticari proteaz (alkalaz) enzimi kullanarak elde edilen yağ veriminin diğer enzimlere oranla daha yüksek çıktığı görülmüştür. Optimum koşullar; enzim konsantrasyonunun % 1 (Alkalaz), pH 9,0 ve inkübasyon sıcaklığı 50 °C (1 saat için).

Jiang ve çalışma arkadaşları [43] Alcalase 2.4L enzimi kullanarak yer fıstığının yağ ve protein hidrolizat ekstraksiyonunu incelemiştir.

Optimum proses koşulları: Hidroliz sıcaklığı 60 °C, pH 9,5, tohum-su oranı 1:5 (ağ/hac), alkalik ekstraksiyon zamanı 90 dak., enzim miktarı % 1,5 (ağ/ağ) ve hidroliz zamanı 5 saat. Bu koşullar altında, serbest yağ ve protein hidrolizat verimleri sırasıyla, % 79,32 ve % 71,38'dir. As1398 enzimi kullanıldığında toplam serbest yağ ve protein hidrolizat verimleri sırasıyla, % 91,98 ve % 88,21'den daha fazla olduğu görülmüştür.

Caetano ve çalışma arkadaşları [44] ayçiçek yağının ekstraksiyonunda termoplastik çekme (ekstrüzyon) ve enzimatik sulu ekstraksiyonunun kombinasyonu yağ verimini arttırdığından söz etmiştir. Ekstrüzyon ve enzim inkübasyon parametreleri ticari enzimler (Vizkoenzim ve Alkalaz) kullanan yüzey yöntemine karşılık oluşturulmuştur. Proses için seçilen koşullar: 70 °C, 4 saat, ekstrüzyon dönüş hızı 180 rpm, seyreltme oranı 1:5 ve enzim miktarı % 0,3 (ağ/ağ). Ekstrüzyon proses verimini yaklaşık % 54 arttırmıştır, ve yağın sulu ekstraksiyonunda laboratuvar enzimleri ticari enzimlere göre daha etkili olmuştur. Enzimatik sulu ekstraksiyonda

maksimum yağ verimi E122 - V2000 ve ticari enzimlerle sırasıyla, % 82 ve % 70'dir.

Latif ve çalışma arkadaşları [45] kanola yağı ve proteinin sulu ekstraksiyonuna etki eden çeşitli enzimleri incelemiştir. Sulu ekstraksiyon sırasında yağ ve protein eldesine olan etkisi için test edilen enzimler Protex 7L, Multifect Pectinex FE, Multifect CX 13L ve Natuzim. Enzim ekstrakteli kanola yağ oranı % 22,2 - % 26,0 arasında çıkmıştır ve enzimsiz ekstraksiyona (% 16,48) göre oldukça farklı çıkmıştır.

Yağın sulu ekstrasyonu sırasında normalde büyük miktarlarda protein (% 3,5 - % 5,9) içeren tohum, sulu ve krema fazına ekstrakte edilir. Enzimli veya enzimsiz olarak geleneksel çözücü ekstrasyonu ve sulu ekstrasyonu ile ekstrakte edilen kanola yağının fizikokimyasal özellikleri karşılaştırılmıştır. Serbest yağ asidi içeriği, peroksit değeri, renk ve tokoferol (alfa, gama ve delta) konsantrasyonlarında önemli farklılıklar gözlemlenmiştir. Ancak, iyod değeri, sapma endeksi (40 °C), yoğunluk (24 °C), saponifikasyon değeri ve yağ asidi bileşimlerinde önemli bir değişiklik görülmemiştir. Enzim ekstraksiyonlu yağın kalitesi çözücü ekstraksiyonlu yağın kalitesinden daha iyidir. Enzimler yağın ekstraksiyonunu arttırırken, yağın verimi çözücü ekstraksiyonuna göre daha az çıkmıştır.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1 Kullanılan Hammaddeler

Bu çalışmada kullanılan pamuk çekirdekleri Kahramanmaraş Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü'nden Mart 2010 tarihinde temin edilmiştir. Pamuk tohumlarından enzimatik ekstraksiyon deneylerinde proteaz olarak Alcalase 2.5L Type-DX, selüloz olarak Celluclast 1.5L ve pektinaz olarak Pectinex Ultra Clear ticari enzimleri kullanılmıştır. Bu enzimler Novozymes A/S (Bagsvaerd, Denmark) firmasından hediye edilmiştir.

Alcalase 2.5L Type-DX *Bacillus licheniformis* mikroorganizmalarından elde edilmiş proteazdır ve proteolitik aktivitesi 2,5 AU/g (Anson Units/gram)'dır. Enzimin optimum sıcaklık aralığı 55 - 70 °C ve optimum pH aralığı 4 - 8'dir. Celluclast 1,5L *Trichoderma reesei* mikroorganizmalarından elde edilen ve selulolitik aktivitesi 700 EGU/g (Endo-Glucanase Units/gram) olan selüloz'dır. Enzimin optimum sıcaklık aralığı 50 - 60 °C ve optimum pH aralığı 4,5 - 6,0'dır [46,47]. Pectinex Ultra Clear ise *Aspergillus niger* mikroorganizmalarından elde edilmiştir ve poligalakturonaz, pektinesteraz ve pektin transeliminaz'dan ibaret pektinaz enzimleri karışımıdır. Bu enzimin aktivitesi 7900 PGNU/mL (Poligalakturonaz/mL)'dir. Enzimin optimum pH aralığı 3,5 - 6,0 olup optimum sıcaklık 50 °C dir [48].

Yağın ekstraksiyonunda yüzey aktif madde olarak Texapon N70 kullanılmıştır ve bu kimyasal Cognis Kimya A.Ş.(İstanbul, Türkiye) firmasından hediye edilmiştir. Texapon N70 standart anyonik bir yüzey aktif maddesidir ve birçok uygulamada köpük yapıcı, nemlendirici madde, yüzey aktif maddesi ve çözücü olarak kullanılmaktadır [49].

Fosfat tampon çözeltileri potasyumdihidrojen fosfat (KH_2PO_4) (1/15mol/L) stok çözeltisi ile disodyum hidrojen fosfat (Na_2HPO_4) (1/15mol/L) stok çözeltisinin karışımı ile hazırlanmıştır.

Deneyleerde kullanılan çözücüler ve diğer kimyasal maddeler Merck firmasından temin edilmiştir.

3.2 Yöntemler

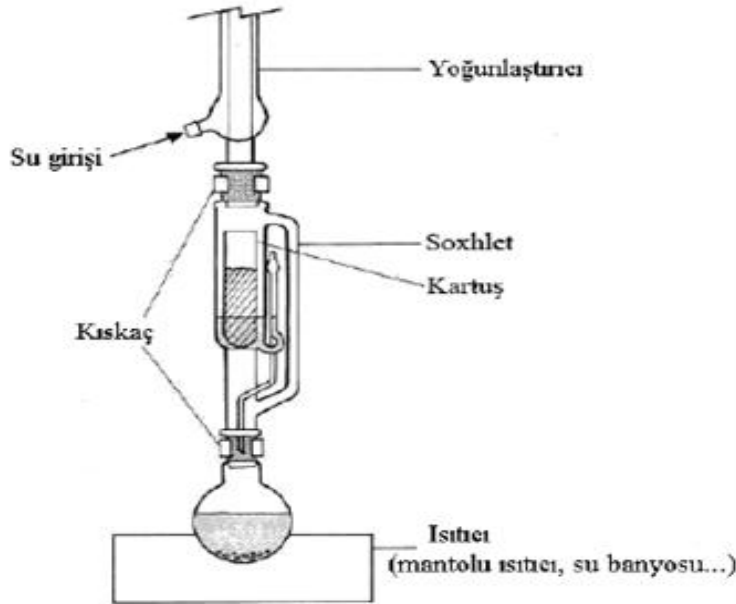
3.2.1 Pamuk tohumlarının öğütülmesi ve karakterizasyonu

Pamuk çekirdekleri, pamuk lifleriyle kaplı olduklarından önce temizlenmiş, kırılmış ve içerdiği tohumlar özenle toplanmıştır. 50 adet tohum kullanılarak tohumların ortalama ağırlığı, boyutları ve kabuk miktarları saptanmıştır.

Tohumlara homojenizasyon, ultrasonikasyon [50], mekanik işlemler (ekstrüzyon ve rendeleme) [51, 52], sıcak su banyosunda inkübasyon (hidrotermal ön işlem) [53] ve 105 °C’de fırında kurutma gibi ön işlemler uygulanmamıştır. Tohumlar kahve değirmeninde öğütülmüş, eleklerden elenmiş ve tane büyüklüğüne göre iki gruba ayrılmıştır. Tane boyutları 0,6 mm’den daha ufak taneleri içeren fraksiyon P1 ve 0,6 - 1,0 mm aralığında olan fraksiyon ise P2 olarak adlandırılmıştır. Her iki fraksiyonun nemi ve yağ içerikleri AOCS standartlarına göre belirlenmiştir [54].

Tohumların nem içerikleri 105 °C’de etüvde ısıtma sonucu oluşan ağırlık kaybından faydalanılarak hesaplanmıştır.

Pamuk tohum fraksiyonlarının yağ içeriklerinin saptanmasında kullanılan Soxhlet düzeneği Şekil 3.1 ’deki gibidir.



Şekil 3.1: Soxhlet düzeneği [55]

Yağ içeriklerin belirlenmesi için, 10 gram P1 veya P2 fraksiyonu Soxhlet cihazının ekstraktör bölümüne kartuş içinde yerleştirilmiş ve 4 saat boyunca hekzan ile ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon sonrası hekzan çözeltisi darası belli balona alınmış ve döner buharlaştırıcıda (Laborata 4000-efficient Heidolph, USA) 85 °C’de hekzan evapore edilmiştir. İşlem sonucunda balon tekrar tartılmış ve elde edilen yağ miktarı üzerinden her iki tohum fraksiyonunun yağ içerikleri hesaplanmıştır.

3.2.2 Pamuk yağı örneklerinin yağ asitleri bileşimlerinin belirlenmesi

P1 ve P2 diye adlandırdığımız farklı tane büyüklüğündeki tohum fraksiyonlarından direkt hekzan ile ekstrakte edilerek elde edilmiş pamuk yağları (PY1 ve PY2) ile enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemine göre elde edilmiş bir pamuk yağı örneğinin (EPY) yağ asitleri bileşimleri HP 5890 II gaz kromatografisi cihazı (Hewlett Packard, Waldron, Almanya) ile saptanmıştır.

Örneklerin yağ asidi bileşimlerinin belirlenmesi için önce yağlar BF₃/Metanol esterifikasyonu prosedürüne göre yağ asitleri metil esterlerine dönüştürülmüştür [54]. Gaz kromatografisi cihazında HP-INNOWAX kapiler kolon [30 m x 0,32 mm x 0,5 µm film kalınlığında polietilen glikol (PEG)] kullanılmış olup bu kolon Teknokroma (Barselona, İspanya) firması ürünüdür. Cihazda alev iyonlaşma dedektörü ile analiz edilmiştir. Dedektör sıcaklığı 280 °C ve enjektör sıcaklığı da 250 °C’dir. Fırın sıcaklığı 5 dakika boyunca 150 °C’de sabit tutulmuş ve sıcaklık 10 dakika süresince 150 °C’den 275 °C’ye çıkarılmıştır. Taşıyıcı gaz olarak 1,6 mL dak⁻¹ akış hızıyla oksijensiz azot kullanılmıştır. Hidrojen ve havanın akış hızları sırasıyla, 33 ve 460 mL dak⁻¹’dir. 0,7 µL hacmindeki numune enjektör iğnesiyle ayırma oranı 1:88 olan ayırma modunda enjekte edilmiştir. Kromatogramda görülen piklerin tanımlanması, piklere ait alıkonma zamanlarının aynı koşullarda analiz edilen standart metil esterleri karışımının alıkonma zamanlarıyla karşılaştırılması ile yapılmıştır. Pik alanlarının entegrasyonu ile yağ asitlerinin yüzde bileşimleri hesaplanmıştır.

3.2.3 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesi ve ekstraksiyon veriminin hesaplanması

Pamuk tohumlarından (P1 / P2 fraksiyonlarından) sulu ekstraksiyon yöntemi ile yağ eldesinde pH, süre, çözücü cinsi, enzim cinsi (proteaz, selülaz ve pektinaz) ve miktarının etkileri incelenmiştir. Çalışmamızda kullandığımız çalışma prosedürü Moreau ve arkadaşlarının [56] uyguladıkları yöntemin modifiye edilmiş şeklidir. 4 g pamuk tohumu (P1/P2 fraksiyonu) örnekleri 50 mL'lik polikarbonat falkon santrifüj tüplerine konulmuş ve 30 mL pH'ı belirli fosfat tampon çözelti ilave edilmiştir. Falkon tüplerine gereken miktarda enzim katıldıktan sonra, tüpler orbital çalkalayıcıya (Edmund Bühler, KS-15, Germany) yatay olarak yerleştirilmiştir. Çalkalama işlemine 200 rpm hızında 50 °C'de belirli süre devam edilmiştir. Çalkalama sonrası tüpler 95 °C'lik sıcak su banyosunda 15 dakika bekletilmiş ve böylece enzimlerin inaktive olması sağlanmıştır.

Falkon tüpleri daha sonra santrifüj cihazına (Universal 32, Hettich Zentrifugen, Germany) yerleştirilmiş ve 4000 rpm'de 1 saat boyunca santrifüj edilmiştir [57,58]. Santrifüjlenen karışım tüp içerisinde dört faza ayrılmıştır. En üstte yağ fazı, daha sonra kremamsı görünümdeki yağ-su emülsiyon fazı, berrak olmayan sulu faz ve en dipte ise küspe diye adlandırılan katı faz yer almıştır. Enzimatik ekstraksiyon denemelerinde en büyük zorluk, enzimatik reaksiyonlar sonucu açığa çıkan hidroliz ürünleri (protein, selüloz, hemiselüloz, pentanoz makromoleküllerinin hidroliz ürünleri) ile sulu ortama geçen yağ molekülleri arasında oluşan bazı kimyasal bağlar sonucu emülsiyon oluşumudur. Dolayısıyla reaksiyon ortamından yağın tamamının yüzeyde toplanması engellenmektedir [59]. Bu nedenden dolayı ekstraksiyon verimlerinin hesaplanmasında aşağıda açıklanan iki farklı yöntem uygulanmıştır.

Çözücü vasıtasıyla sıvı fazlardan geri kazanılan yağ üzerinden yağ veriminin (V_s) hesaplanması: Santrifüj tüpünde sıralanan yağ fazı, kremamsi faz ve sulu faz dikkatli bir şekilde içerisinde çözücü [(50 mL hekzan ve 50 mL su) veya (100 mL kloroform:metanol, 2:1 karışımı)] bulunan ayırma hunisine aktarılır. Oluşan karışım çalkalanır ve fazlara ayrılması beklenir. Sulu fazı ve çözücü fazı olmak üzere iki faza ayrılan karışımdan sulu fazı başka bir ayırma hunisine aktarılır ve aynı işlemler 2 - 3 defa tekrarlanır. Çözücü fazı (hekzan veya kloroform-metanol karışımı) darası bilinen balona nakledilir ve balon döner buharlaştırıcıya yerleştirilir. 80-85 °C'de çözücü evapore edilir.

Balonda kalan yağ miktarı üzerinden V_s hesaplanır:

$$V_s (\%) = (Y_s / Y_b) \times 100 \quad (3.1)$$

Burada, Y_s = Sıvı fazlardan çözücü ile geri kazanılan yağ miktarı, gram;
 Y_b = İşleme tabi tutulan tohumların içerdiği başlangıç yağ miktarı, gram'dır.

Küspede kalan yağ üzerinden yağ veriminin (V_K) hesaplanması: Santrifüjleme sonucu tüpte kalan küspe, katı faz, süzgeç kağıdı üzerine nakledilir ve 105 °C'de kurutulur. Süzgeç kağıdı ve küspe birlikte 250 mL'lik behere yerleştirilir. Üzerine 15 mL/g madde olacak şekilde hekzan konulur. Beher içeriği manyetik karıştırıcıda 800 rpm'de 1,5 saat karıştırılır. Böylece küspede kalan yağ hekzan ile ekstrakte edilmiş olur. Hekzanlı çözelti daha sonra süzgeç kağıdından süzülerek darası belirli balona alınır. Süzgeç kağıdı üzerinde kalan küspe partikülleri birkaç defa 15 mL hekzan ile yıkanır. Yıkama çözeltileri de balon içerisinde toplanır. Balon döner buharlaştırıcıya yerleştirilir. 80 - 85 °C'de hekzan evapore edilir. Balonda kalan yağ miktarı üzerinden V_K hesaplanır [60]:

$$V_K (\%) = [(Y_b - Y_k) / Y_b] \times 100 \quad (3.2)$$

Burada, Y_b = İşleme tabi tutulan tohumların içerdiği başlangıç yağ miktarı, gram;
 Y_k = Küspede kalan yağ miktarı, gram'dır.

3.2.4 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesine yüzey aktif madde katkısının etkisi

Çalışmamızın bu bölümünde, sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde en yüksek yağ verimin gerçekleştirildiği çalışma koşullarında, iki ayrı ekstraksiyon deneyi daha yapılmıştır. 1. deney serisinde sulu ortama enzime ilaveten yüzey aktif madde de katılmıştır. 2. deney serisinde ise enzim olmaksızın aynı koşullarda sadece yüzey aktif madde ile ekstraksiyon deneyi yürütülmüştür. Yüzey aktif maddesi olarak standart anyonik Texapon N70 kullanılmıştır.

Yüzey aktif madde katkılı sulu ekstraksiyon denemelerinde de Bölüm 3.2.3 'de açıklanan çalışma prosedürüne ve verim hesaplama eşitliklerine aynen uyulmuştur.

3.2.5 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile elde edilmiş yağın karakterizasyonu

Bu son bölümde ise enzimatik sulu ekstraksiyon ile en yüksek verimin sağlandığı koşullarda olarak elde edilmiş pamuk yağının asit değeri ve yağ asitlerinin bileşimi belirlenmiştir. Asit değeri AOCS standard yöntemine göre saptanmıştır. Yağ asitlerinin bileşimleri ise Bölüm 3.2.2'de açıklanan çalışma prosedürü uygulanarak belirlenmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Çalışmamızın amacı pamuk tohumlarından enzimatik ekstraksiyon yöntemi ile mümkün olduğu kadar yüksek verimle yağ elde etmektir. Önce pamuk tohumları öğütülmüş ve tane büyüklüklerine göre P1 (< 0,6 mm) ve P2 (0,6 - 1,0 mm) olmak üzere iki fraksiyona ayrılmıştır. Her iki fraksiyondan elde edilen yağların yağ asitleri bileşimleri belirlenmiş ve Soxhlet cihazında hekzan ile % yağ içerikleri tayin edilmiştir. Bu % yağ değerleri ekstraksiyon denemelerinde % 100 ekstraksiyon verimi olarak kabul edilmiştir. Enzimatik ekstraksiyon parametrelerinin (pH'nın, sürenin, çözücü cinsi, enzim cinsi ve miktarının) ekstraksiyon verimine olan etkileri sistematik olarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar aşağıda verilmiştir.

4.1 Pamuk Tohumunun Karakterizasyonu

Deneylelerimizde kullanılan pamuk tohumları ortalama 8,8 mm uzunluğunda ve 100 adetinin ortalama ağırlığı 10,6 gramdır. P1 ve P2 pamuk tohumu fraksiyonlarının nem ve yağ yüzdeleri Çizelge 4.1 'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1: P1 ve P2 pamuk tohumu fraksiyonlarının nem ve yağ içerikleri

	P1		P2	
Tohum boyutu (mm)	< 0,6		0,6 – 1,0	
Nem miktarı (% ağı/ağı)	6,7±0,1		6,4±0,1	
Yağ miktarı (% ağı/ağı)	32,6±0,1 (nemli)	34,9±0,1 (kuru)	27,5±0,7 (nemli)	29,4±0,7 (kuru)

Kullanılan pamuk tohumları ortalama % 30 yağ içermektedir. Bu değer literatürdeki sonuçlara uymaktadır. Yağ miktarı ve diğer özellikler pamuk çeşidi, iklim, olgunlaşma aşaması, çekirdeklerin hasat zamanı ve ekstraksiyon koşulları gibi etkenlere bağlı olarak farklılıklar gösterebilir [46].

4.2 Pamuk Tohumu Yağının Yağ Asitleri Bileşimi

P1 ve P2 tohum fraksiyonlarından hekzan ile ekstrakte edilen yağların yağ asitleri bileşimleri, yağ örnekleri metil esterlerine dönüştürüldükten sonra gaz kromatografi cihazı ile Bölüm 3.2 'de açıklanan prosedüre göre belirlenmiştir. Çizelge 4.2 'de bileşim değerleri verilmiştir.

Çizelge 4.2: P1 ve P2 tohum fraksiyonları yağlarının yağ asitleri bileşimleri

Yağ asitleri	Yağ asitleri bileşimi (%)	
	P1	P2
Miristik asit (14:0)	0,8	0,8
Palmitik asit (16:0)	25,5	25,6
Palmitoleik asit (16:1)	0,6	0,6
Stearik asit (18:0)	2,5	2,6
Oleik asit (18:1)	18,1	18,1
Linoleik asit (18:2)	52,5	52,2

P1 ve P2 fraksiyonlarının yağ asitleri bileşimleri açısından hiç fark göstermediği Çizelge 4.2 'den anlaşılmaktadır. Pamuk yağının esansiyel yağ asidi olan linoleik asitce zengin olduğu ve % 25 gibi yüksek oranda palmitik asit içerdiği görülmektedir.

4.3 Pamuk Tohumlarından Enzimatik Sulu Ekstraksiyonla Yağ Eldesine pH, Süre, Enzim Cinsi ve Miktarı ile Yüzey Aktif Madde Etkisi

Bu çalışmada pamuk tohumlarından selüloz, proteaz ve pektinaz enzimleri varlığında sulu ekstraksiyon yöntemi ile yağ eldesinde, yağın verimine ekstraksiyon parametrelerinden süre, tanecik boyutu, pH, enzim cinsi ve miktarı ile yüzey aktif madde katkısının etkileri incelenmiştir.

Sıcaklık enzimatik işlemlerin maliyetini etkileyebilen önemli bir faktördür. Aspir tohumlarından enzimatik ekstraksiyon ile yağ eldesinde aynı enzimler kullanılmış ve sıcaklığın yağ verimi üzerine etkisi incelenmiştir [58]. En yüksek yağ verimleri 50 °C inkübasyon sıcaklığında elde edilmiştir.

Daha yüksek sıcaklıklarda (60 °C) yağ veriminde azalma görülmüştür. Jovanovic ve arkadaşları [57] ile Sharma ve arkadaşları [61] bunun nedenini enzimlerin sıcaklık etkisi ile inaktive olmaya başlaması ile açıklamışlardır. Aspir yağı eldesi üzerinde yürütülmüş sözkonusu olan aynı çalışmada ekstraksiyon esnasında çalkalama hızının yağ verimine olan etkileri de incelenmiş ve optimum çalkalama hızının 200 rpm olduğu tespit edilmiştir [58]. Ayrıca Sharma ve arkadaşları kendi çalışmalarında, 200 rpm den daha düşük hızların yağ eldesinde azalmalara yol açtığını ve yüksek çalkalama hızlarının da yağın emülsifiye olmasını arttırdığını gözlemişlerdir. Bu verilerden hareketle deneylerimizde reaksiyon sıcaklığı 50 °C ve çalkalama hızı 200 rpm olarak seçilmiştir.

4.3.1 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, yağ verimine tane boyutlarının etkisi

Ekstraksiyon deneylerinde yağ verimine tane boyutlarının etkisini incelemek amacıyla, önce P1 tohum fraksiyonu proteaz enzimi varlığında pH 4 - 6 aralığında 4 - 8 saat reaksiyona tabi tutulmuştur. 0,25 mL/g tohum enzim miktarı ile yürütülen ekstraksiyon deneyleri sonunda, sıvı fazlardan yağın geri kazanılması hekzan vasıtası ile sağlanmıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.3 'de verilmiştir.

Çizelge 4.3: P1 tohum fraksiyonunun proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi (enzim miktarı: 0,25 mL/g; çözücü: hekzan)

Süre (saat)	Yağ verimi (% V _S)		
	pH 4	pH 5	pH 6
4	14,1	13,3	13,4
6	12,1	15,8	16,5
8	12,7	15,1	15,4

Çizelge 4.3 'ten P1 fraksiyonu ile en yüksek verim değerlerinin pH 5 ve pH 6'da 6 saatlik reaksiyon sonunda alındığı görülmektedir. pH 6'da yağ verimi 6 saatte % 16,5 değerine yükselmektedir. 8 saatte ise verim değerleri biraz azalmaktadır. Bu denemeden sonra deneyler 6 saatte pH5 ve pH6'da yapılmıştır.

P2 tohum fraksiyonu ile de pH 5 ve pH 6'da 6 saat ekstraksiyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. P1 ve P2 fraksiyonlarına ait verim değerleri mukayeseli olarak Çizelge 4.4 'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.4: P1 ve P2 tohum fraksiyonlarının proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve sürenin etkisi (enzim miktarı: 0,25 mL/g; süre: 6 saat; çözücü: hekzan; 50 °C)

pH	P1		P2	
	Yağ miktarı (%)	Yağ verimi (% V _S)	Yağ miktarı (%)	Yağ verimi (% V _S)
5	5,2±0,1	15,8	2,5±0,1	9,0
6	5,4±0,6	16,5	2,45±0,1	9,0

Yukarıdaki çizelgeden anlaşılacağı gibi, her pH değerinde partikül boyutları küçük (< 0,6 mm) P1 fraksiyonu ile elde edilmiş verim değerleri daha büyük partikül boyutlarına sahip tohumlarla (P2) elde edilenlerden daha yüksektir. Bu beklenen sonuçtur. Partikül boyutunun küçülmesi enzim substrat temas yüzeyini arttırmakta ve enzim hücre duvarlarından daha iyi geçiş yapmaktadır [27]. Buna karşılık Santamaria ve arkadaşlarının fındık ile yürüttükleri bir çalışmada, en yüksek ekstraksiyon verimine 0,4 – 0,6 mm çapındaki tohumlarının kullanımı ile ulaşıldığı beyan edilmektedir [59]. Elde ettiğimiz sonuçlara göre, bizim çalışmalarımızın devamında P1 (< 0,6 mm) tohum fraksiyonunun kullanılmasına karar verilmiştir.

P1 ve P2 fraksiyonları ile aynı koşullarda selülaz enzimi ile yürütülmüş ekstraksiyon denemelerinde, her pH değerinde (pH 5 ve pH 6'da) % 1 'in üstünde yağ verimleri elde edilememiştir.

4.3.2 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, yağ verimine çözücü cinsinin ve enzim miktarının etkisi

Bilindiği üzere kloroform-metanol (2:1, hacim/hacim) karışımı yüksek nem içerikli preparatlardan apolar bileşiklerin eldesinde tercih edilen çözücü karışımıdır [62]. Literatürde benzer çalışmalarda çözücü olarak hekzan dışında kloroform-metanol (2:1) karışımı denenmiştir [62]. Çalışmalarımızın ikinci bölümünde, yağ verimi üzerine çözücü ve enzim miktarının etkisini görebilmek için, önce proteaz enzimi ile enzimatik reaksiyonlara başlanmış ve reaksiyonlar paralel iki seri halinde yürütülmüştür. Reaksiyonların bir serisinde yağ miktarının saptanmasında hekzan, diğer seri reaksiyonlarda ise çözücü olarak kloroform-metanol karışımı kullanılmıştır. Bu deneylerde aynı zamanda enzim miktarının verim üzerine etkisi de incelendiğinden, pH5 ve pH6'da enzim miktarları 0,25 - 1,25 mL/g aralığında değiştirilmiştir. Her iki seriye ait sonuçlar Çizelge 4.5 'te birlikte verilmiştir.

Çizelge 4.5: P1 tohum fraksiyonunun proteaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH, çözücü cinsi ve enzim miktarının etkisi (6 saat; 50 °C)

Enzim (mL/g)	Yağ verimi (% V _S)			
	pH 5		pH 6	
	Hekzan	Kloroform+metanol	Hekzan	Kloroform+metanol
0,25	15,8	27,1	16,5	32,2
0,50	7,4	39,2	10,4	47,9
0,75	10,4	41,6	10,0	38,9
1,00	8,3	32,7	6,4	32,6
1,25	6,2	34,9	5,6	31,3

Kloroform-metanol (2:1) çözücüsü kullanarak elde edilen yağ miktarlarının hekzanla elde edilmiş olanlara göre 3,4 – 4,0 kat daha yüksek olduğu Çizelge 4.5 'den anlaşılmaktadır. pH6 da 0,50 mL/g enzim miktarında gerçekleştirilmiş enzimatik reaksiyonda, kloroform-metanol çözücü karışımı ile % 48 yağ verimine ulaşılmıştır. Bu koşullarda tohumların içerdiği yağın pratik olarak yarısı sulu faza geçmiştir.

Kloroform-metanol karışımı ile daha yüksek yağ verimleri elde edildiğinden çalışmamızın devamında bu çözücü sistemi ile çalışılmıştır.

Selüloz ve pektinaz enzimleri ile de aynı koşullarda enzimatik ekstraksiyon deneyleri yürütülmüştür. pH 5 ve pH 6 'da, enzim miktarları 0,25 - 1,25 mL/g arasında değiştirilerek 6 saat selüloz ve pektinaz enzimleri kullanılarak ayrı ayrı reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6 ve Çizelge 4.7 'de verilmiştir.

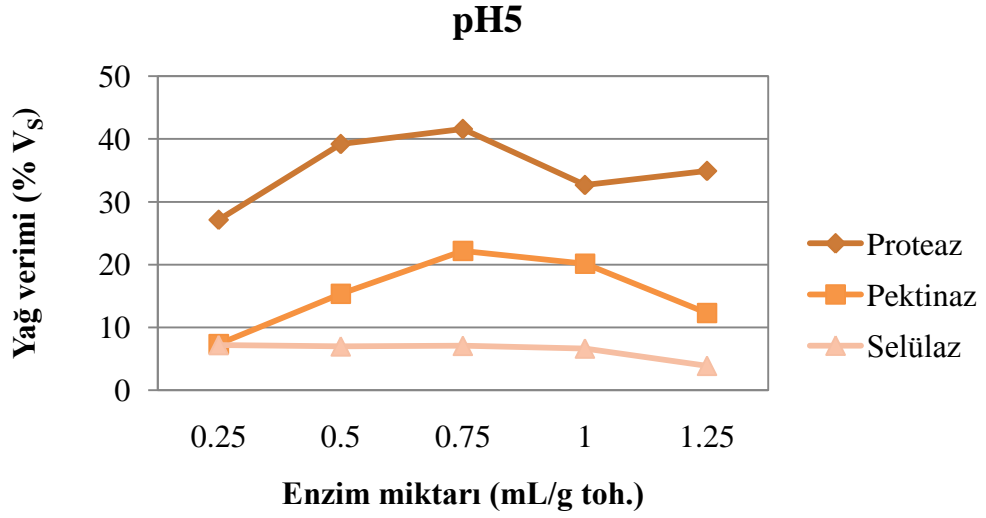
Çizelge 4.6: P1 tohum fraksiyonunun selüloz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve enzim miktarının etkisi (6 saat; 50 °C, çözücü: kloroform-metanol)

pH	Yağ verimi (% V _s)				
	0,25 mL/g	0,50 mL/g	0,75 mL/g	1,00 mL/g	1,25 mL/g
5	7,2	7,0	7,1	6,7	3,9
6	7,0	7,2	9,2	6,8	0,8

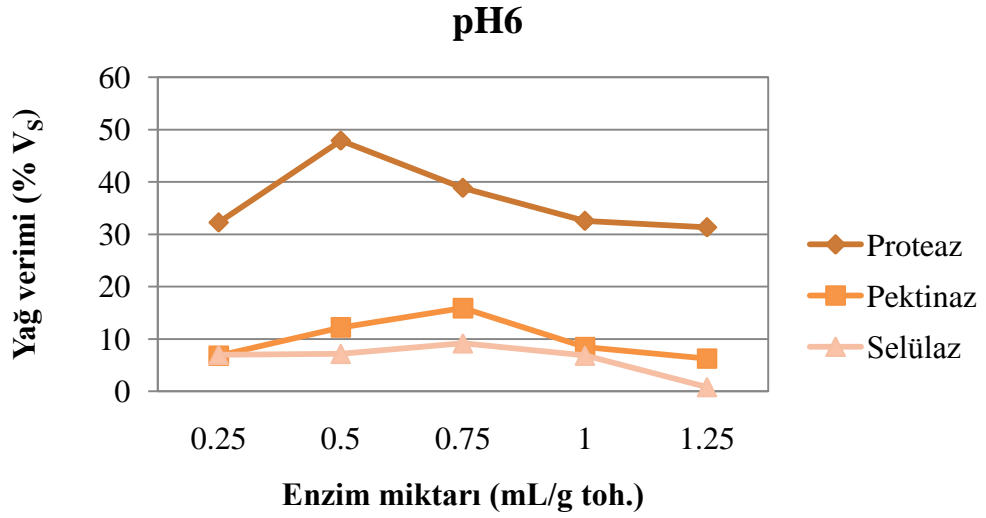
Çizelge 4.7: P1 tohum fraksiyonunun pektinaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH ve enzim miktarının etkisi (6 saat; 50 °C, çözücü: kloroform-metanol)

pH	Yağ verimi (% V _s)				
	0,25 mL/g	0,50 mL/g	0,75 mL/g	1,00 mL/g	1,25 mL/g
5	7,4	15,3	22,2	20,2	12,3
6	6,8	12,2	15,9	8,5	6,3

Çizelge 4.6 ve 4.7 'den enzim miktarındaki artışın belli bir değere kadar açığa çıkan yağ miktarını arttırdığı, belli bir değerden sonra ise yağ miktarında düşüşün olduğunu göstermektedir. Enzim maliyeti prosesin ekonomikliğı açısından önemli bir girdidir. Her enzim için optimum enzim miktarını belirlemek için Çizelge 4.5, 4.6 ve 4.7 'de verilmiş değerlerden pH5 ve pH6 için Şekil 4.1 ve 4.2 'de gösterilen eğriler çizilmiştir. Bu eğrilerin değerlendirilmesi ile optimum enzim miktarları, proteaz için pH6 'da 0,5 mL/g, selüloz için pH6 'da 0,75 mL/g ve pektinaz için pH5 'de 0,75 mL/g olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1: Pamuk tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarlarının etkisi (pH 5; 6 saat; 50 °C; çözücü: kloroform-metanol)



Şekil 4.2: Pamuk tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine enzim miktarlarının etkisi (pH 6; 6 saat; 50 °C; çözücü: kloroform-metanol)

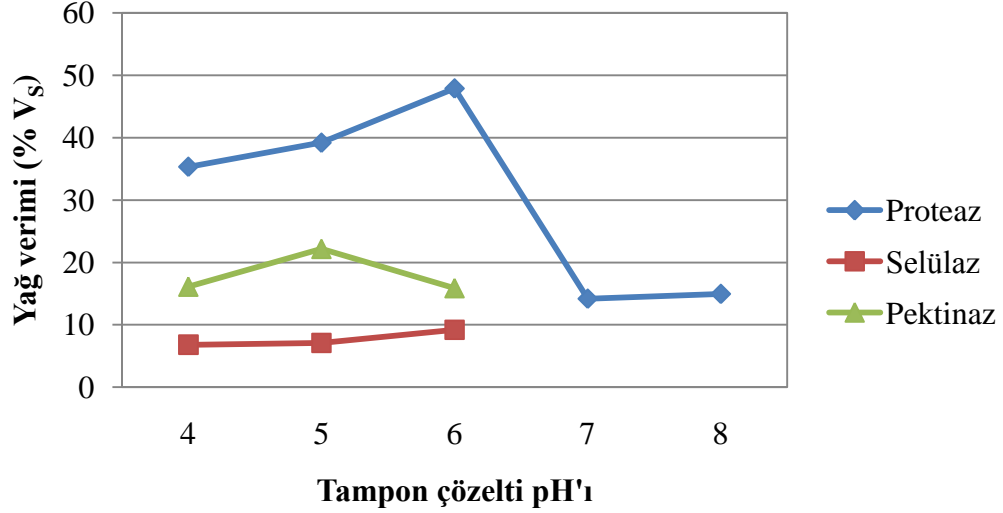
4.3.3 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, geniş pH aralığında yağ veriminin değişimi

Optimum enzim değerlerinin belirlenmesi pH5 ve pH6 da yürütülmüş çalışmaların sonuçlarına göre yapılmıştır. Bu seçimlerin doğruluğu için daha geniş pH aralığında reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu reaksiyonlarda gram tohum başına 0,5 mL proteaz ve 0,75 mL selülaaz ve pektinaz kullanılmıştır. Çizelge 4.8 'de elde edilen sonuçlar gösterilmiştir.

Çizelge 4.8: P1 tohum fraksiyonunun proteaz, selülaaz ve pektinaz enzimi ile enzimatik sulu ekstraksiyonlarında, yağ verimine pH etkisi (6 saat; 50 °C; 0,5 mL/g proteaz; 0,75 mL/g selülaaz; 0,75 mL/g pektinaz)

pH	Yağ verimi (% V _s)		
	Proteaz (0,5 mL/g)	Selülaaz (0,75 mL/g)	Pektinaz (0,75 mL/g)
4	35,3	6,8	16,1
5	39,2	7,1	22,2
6	47,9	9,2	15,9
7	14,2	-	-
8	14,9	-	-

pH 7 ve pH 8 'de selülaaz ve pektinaz enzimleri ile sağlıklı sonuçlar alınamamıştır. Proteaz enziminin de bu pH değerlerinde çok az aktivite gösterdiği Çizelge 4.8 'den anlaşılmaktadır. Şekil 4.3 'ten de her enzim için optimum pH değerleri daha net olarak görülmektedir. Proteaz ve selülaaz enzimleri için optimum pH 6 iken pektinaz enzimi için pH 5 optimum olmaktadır.



Şekil 4.3: Pamuk tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine pH etkisi (6 saat; 50 °C; çözücü: kloroform-metanol; 0,5 mL/g proteaz; 0,75 mL/g selülaz; 0,75 mL/g pektinaz)

4.3.4 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, süre artışının yağ verimine etkisi

Bu bölümde yürüttüğümüz deneylerde reaksiyon süresinin artışının verime olan etkisi incelenmeye alınmıştır. Her üç enzim için ekstraksiyonlar ayrı ayrı 15, 18 ve 24 saat yürütülmüştür. Enzimler için bu aşamaya kadar belirlenmiş en iyi koşullarda reaksiyonlar gerçekleştirilmiştir. Proteaz ile pH6'da 0,5 mL/g enzim miktarında, selülaz ile pH6 'da 0,75 mL/g enzim miktarında ve pektinaz ile pH5 'te 0,75 mL/g enzim miktarında çalışılmıştır.

Çalışmamızın bu bölümünde, proteaz ve selülaz enzimleri ile elde edilen sonuçlarda zaman uzadıkça V_s verim değerlerindeki düşme olduğu gözlenmiştir. Bu verim düşüşlerinin gerçeği yansıtmadığı, proteaz ve selülaz enzimlerinin hücre komponentleri ile gerçekleştirdiği reaksiyonlar sonucu açığa çıkan hidroliz ürünlerinin konsantrasyonunun artması ile alakalı olduğu görüşüne varılmıştır. Büyük bir olasılıkla artan hidroliz ürünleri yağ moleküllerinin emülsiyonunu arttırmakta, dolayısıyla sıvı fazlardan yağın çözücü ile geri kazanılmasını engellemektedir. Bu görüşümüzü de ispatlamak ve de gerçek verim değerlerini bulabilmek için deneylerimizde küspede kalan yağ üzerinden de verim değerleri (V_K) hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9 'da proteaz enzimi ile yürütülmüş deneylere ait sonuçlar görülmektedir. 6 saatlik reaksiyon sonucunda dahi yağ veriminin % 70 'lere erişmiş olduğu anlaşılmaktadır. Bu koşulda dahi sıvı fazda olması gereken yağın ancak % 67 'si kloroform-metanol ile ekstrakte edilebilmiştir. Süre uzadıkça hücrelerden sıvı faza geçen yağ miktarı artmaktadır. 24 saatte V_K yağ verimi % 85 'lere erişirken çözeltiden hesaplanmış yağ verimi ise gittikçe azalarak % 29 'lara düşmüştür.

Çizelge 4.9: P1 tohum fraksiyonunun proteaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre etkisi (50 °C; pH6; 0,5 mL/g)

Süre (saat)	Yağ verimi (% V_S)	Yağ verimi (% V_K)
6	47,9	71,2
15	36,9	84,5
18	30,6	83,9
24	28,8	84,8

Çizelge 4.10 'da selülaaz enzimi ile yürütülmüş ekstraksiyon reaksiyonlarına ait sonuçlar verilmiştir. Sıvı fazlardan hesaplanmış yağ verim değerlerinin en fazla 18 saatte % 13 olmuştur. Küspede kalan yağ üzerinden hesaplanmış V_K verim değerleri ise 6 saatte en yüksek % 67 değerine ulaşmıştır. Sürenin artışı ile V_K değerlerinde de azalma görülmektedir. 24 saatte V_K % 29 değerine düşmüştür. Bu azalma yine selülaaz hidroliz ürünlerinin küspeden hekzan ile yağ ekstraksiyonunun engellemiş olması ile açıklanabilir.

Çizelge 4.10: P1 tohum fraksiyonunun selülaaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre etkisi (50 °C; pH6; 0,75 mL/g)

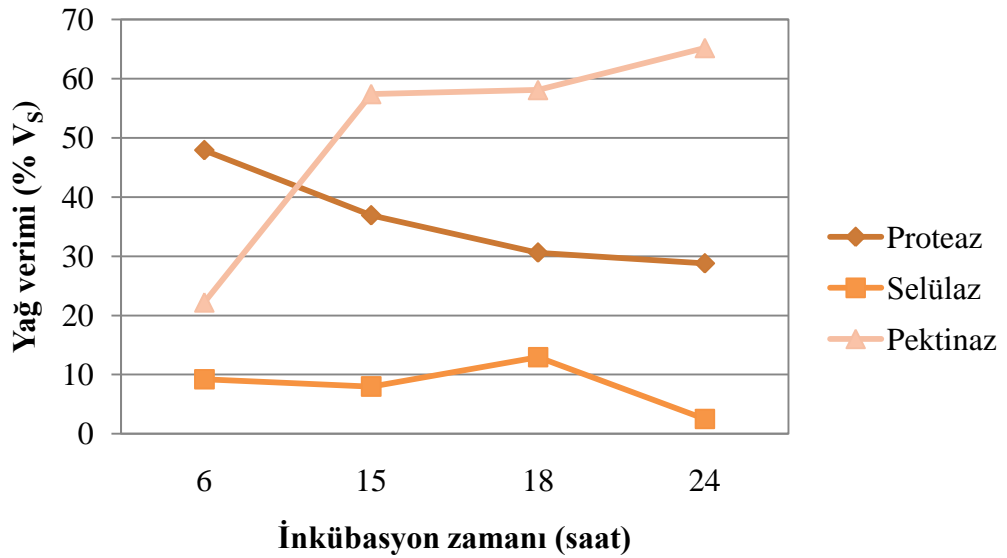
Süre (saat)	Yağ verimi (% V_S)	Yağ verimi (% V_K)
6	9,2	67,2
15	8,0	52,4
18	13,0	46,0
24	2,5	29,1

Çizelge 4.11: P1 tohum fraksiyonunun pektinaz ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, yağ verimine süre etkisi (50 °C; pH5; 0,75 mL/g)

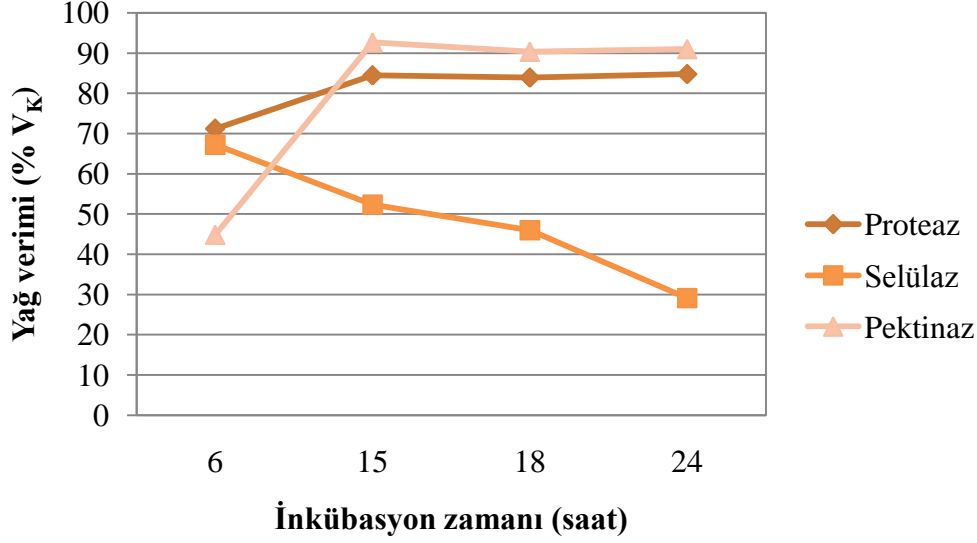
Süre (saat)	Yağ verimi (% V_S)	Yağ verimi (% V_K)
6	22,2	44,9
15	57,4	92,7
18	58,0	90,4
24	65,2	91,0

Pektinaz enzimi ile yürütülmüş deneylerimizin sonuçları Çizelge 4.11 'de verilmiştir. Reaksiyon süresi arttıkça her iki hesaplama yöntemine göre belirlediğimiz verim değerleri de artmaktadır. 24 saat sonunda V_S ve V_K verim değerleri sırasıyla % 65 ve % 91 'dir. Çözeltiye geçen yağın % 72 'si ancak sıvı fazlardan geri kazanılmıştır. Bu miktarın yükseltilmesi için ortama yüzey aktif madde katılması düşünülmüştür.

Çalışılan her üç enzim için V_S ve V_K verim değerleri süre ile değişim eğrileri sırasıyla Şekil 4.4 ve Şekil 4.5 'te gösterilmiştir.



Şekil 4.4: Pamuk tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (V_S) yağ verimine sürenin etkisi (50 °C; çözücü: kloroform-metanol; 0,5 mL/g proteaz; 0,75 mL/g selülaz; 0,75 mL/g pektinaz)



Şekil 4.5: Pamuk tohumlarının proteaz, selülaz ve pektinaz enzimleri ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda, (V_K) yağ verimine sürenin etkisi (50 °C; 0,5 mL/g proteaz; 0,75 mL/g selülaz; 0,75 mL/g pektinaz)

Sonuç olarak pektinaz enzimi ile en iyi verim değerleri 24 saatte alınmıştır.

4.3.5 Pamuk tohumlarından enzimatik sulu ekstraksiyon ile yağ eldesinde, yüzey aktif madde katkısının yağ verimine etkisi

Enzimatik sulu ekstraksiyona yüzey aktif maddesi katkısıyla yağ veriminin değişimi, şimdiye kadar en iyi sonuçların alındığı pektinaz enzimi varlığında incelenmiştir. Pektinaz enzimi ile 0,75 mL/g miktarında, pH5, 1:7 tohum-su oranı ve 24 saat çalkalama süresinde 50 °C 'de ve 200 rpm çalkalama hızında deneyler yürütülmüştür. Bu koşullarda sadece Texapon N70, sadece enzim ve texapon+enzim kullanılarak üç seri deney gerçekleştirilmiştir.

Yerfıstığı yağının içerisinde % 0,15 yüzey aktif maddesi ve % 6 NaCl bulunan çözelti ve kanola yağının % 0,35 yüzey aktif maddesi ve % 5 NaCl içerikli çözelti ile ekstraksiyonunda 25 °C'de % 93 – 95 ekstraksiyon verimine ulaşılmıştır [63,64]. Bu verilerden hareketle çalışmalarımızda, % 0,3 yüzey aktif madde ve % 6 NaCl içeren tampon çözeltiler kullanılmıştır.

Elde edilen deney sonuçları topluca Çizelge 4.12’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.12: P1 tohum fraksiyonunun pektinaz, Texapon ve pektinaz-Texapon karışımı ile enzimatik sulu ekstraksiyonunda yağ veriminin değişimi (50 °C; pH5; 0,75 mL/g enzim; % 0,3 Texapon; % 6 NaCl)

	Yağ verimi (% V _s)	Yağ verimi (% V _k)
Pektinaz	65,2	91,0
Texapon	24,6	92,6
Pektinaz+Texapon	39,1	95,0

Sonuçlara göre tek bir konsantrasyonda çalıştığımız yüzey aktif madde ilave ile V_k verim değeri pektinaz ile elde edileden daha yüksek çıkmıştır. Pektinaz ile birlikte bu yağ verim değeri % 95 ’i bulmuştur. Ancak yüzey aktif madde ilavesinin yağın çözelti üzerinde toplanmasını büyük ölçüde engellediği deneysel gözlemlerimizde saptanmıştır. Çözeltiden kloroform-metanol ile yağın geri kazanılması da yarı yarıya azalmıştır. V_s veriminin de artırılması için farklı yüzey aktif maddeler ile çalışılabilir.

4.4 Enzimatik Sulu Ekstraksiyon ile Elde Edilen Pamuk Yağının

Karakterizasyonu

Enzimatik sulu ekstraksiyon ve Soxhlet yöntemine göre elde edilen pamuk yağlarının asit değerleri sırasıyla, 0,51 ve 0,46 mg KOH/g yağ olarak bulunmuştur. Enzimatik ekstraksiyon ile elde edilen yağın asit değeri bir miktar daha yüksektir. Bu sonuç Latif ve arkadaşları [45] ve Jovanovic ve arkadaşlarının [57] bulguları ile uyum sağlamıştır.

Her iki yağ örneğinin yağ asitleri bileşimleri saptanmıştır. Sonuçlar Çizelge 4.13 ’te verilmiştir. Bu çizelge incelendiğinde pratik olarak yağ asit bileşimlerinde fark olmadığı anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.13: Enzimatik sulu ekstraksiyon ve Soxhlet yöntemine göre elde edilmiş pamuk yağı örneklerinin yağ asitleri bileşimleri

Yağ asitleri	Yağ asitleri bileşimi (%)	
	Soxhlet ekstraksiyonu	Enzimatik sulu ekstraksiyon
Miristik asit (14:0)	0,8	0,8
Palmitik asit (16:0)	25,5	25,9
Palmitoleik asit (16:1)	0,6	0,6
Stearik asit (18:0)	2,5	3,0
Oleik asit (18:1)	18,1	18,3
Linoleik asit (18:2)	52,5	51,4

5. VARGILAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmanın amacı ekonomik olarak uygun ve çevre dostu iyi kalitede yağ elde etmektir. Bu amaçla pamuk tohumunun enzimatik sulu ekstraksiyonu uygulanmış ve en iyi yağ verimi için deneysel değişkenlerin en uygun değerleri belirlenmiştir. Bu çalışmada ticari enzimlerden proteaz, selüloz ve pektinaz kullanılarak ekstrakte edilen yağ miktarına olan etkisi incelenmiştir. Optimum çalışma koşulları bulunduktan sonra katı fazdan ekstraksiyon ve sulu yüzey aktif maddeli ekstraksiyon yöntemleriyle yağ verimleri incelenmiştir. Sokslet ekstraksiyonu ve enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemleriyle ekstrakte edilen pamuk yağının fizikokimyasal özellikleri analiz edilmiştir ve asitlik değeri ve serbest yağ asidi bileşimleri değerleri bakımından karşılaştırılmıştır. İki yöntemin bu özelliklere belirgin bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

Optimum sonuçlar açısından, kloroform-metanol çözücüsü varlığında 0,75 mL/g pektinaz enzimi kullanarak pH5'te ve 24 saat çalkalama süresinde enzimatik sulu ekstraksiyon yöntemiyle en yüksek yağ miktarı ve yağ verimi sırasıyla % 21,3 (ağ/ağ) ve % 65,2 (ağ/ağ) bulunmuştur. Katı fazdan ekstraksiyon yöntemiyle en yüksek yağ verimi % 91 (ağ/ağ); sulu yüzey aktif maddeli ekstraksiyon yöntemiyle ise en yüksek yağ verimi % 95 (ağ/ağ) bulunmuştur. Ekstrakte edilen yağ miktarına en önemli etkiyi inkübasyon süresi göstermiştir, bunu takiben enzim miktarı ve tampon çözelti pH'ı göstermiştir.

İleriki araştırmalar açısından, farklı enzimlerin etkisinin araştırılması (viskozim gibi enzimlerin hazırlanması ya da hücre duvarını parçalayan enzimler ve fosfolipazların kullanılması) ve ön işlem aşamaları (rendeleme, ekstrüzyon ve hidrotermal ön işlemler) enzimatik işlemlerden önce yağ miktarını arttırabileceğinden dolayı uygulanabilir. De-emülsifikasyon ve yağ eldesi aşamaları esas olarak sulu enzimatik ekstraksiyonun uygulanabilirliğini göstermektedir. Ekstraksiyon sırasında emülsiyonlar oluşmuşsa, yağı alabilmek için emülsiyon kırılmalıdır. Emülsiyonlar *n*-hekzanlı ekstraksiyonla ayırma, dondurma ve ısıtma gibi çeşitli yöntemlerle kırılabilir. Bununla birlikte yağ eldesi için yeni de-emülsifikasyon yöntemleri geliştirilebilir.

Enzim katkılı sulu ekstraksiyon prosesi yağ içeren maddelerden yağın ekstraktesinde bir avantaj olabilmektedir, özellikle de çevre ve güvenlik açısından gözönüne alındığında. Çevre dostu bu proseste iyi ürün eldesi, çevreye zararlı çözücülerin kullanılmasının gerek olmadığını göstermektedir. Elde edilen yağın kalitesi de çözücü ekstraksiyonundakine benzer olduğu görülmüştür. Ancak, ekstraksiyon ve ayırma işlemleri açısından prosesin ticari potansiyelini değerlendirmek için pilot tesis araştırmaları yapılmalıdır. Sonuç olarak, yağ eldesi aşamalarını kolaylaştırmak ve prosesi ticari olarak daha cazip hale getirebilmek için çeşitli araştırmalar gereklidir. Şu anda, enzim maliyeti ve düşük yağ miktarları bu teknolojiyi benimsemeye engel oluşturabilecek başlıca sebeplerdir. Ticari enzimlerin maliyeti ve temin edilebilirliği başlıca bir sorun oluşturduğunda, mikroorganizmalardan seçilen çeşitli enzimler içeren ham enzim karışımları kullanılabilir. Bununla birlikte artan çevresel sorunların enzimler için daha verimli alt akım proses teknolojisinin gelişmesiyle bağlantılı olması, gelecekte yağ ekstraksiyonu için uygulanabilir bir teknoloji yapacaktır.

Enzimatik sulu ekstraksiyona alternatif olarak sulu yüzey aktif maddeli ekstraksiyon yönteminde elde edilen sonuçlar göstermiştir ki enzimatik ekstraksiyona alternatif olabilir. Ayrıca enzim maliyetleri açısından bakıldığında da yüzey aktif maddesi oldukça avantajlı olabilecek konumdadır. Ancak yağın kalitesine olan etkisi ve endüstride uygulanabilirliği daha detaylı olarak araştırılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] **Smith C.W.**,1995. Cotton (*Gossypium hirsutum L.*). Chapter 6. In: *Crop Production:Evolution, History and Technology*. John Wiley and Sons, Inc., New York. pp 287-349
- [2] **Lee J.A.**, 1984. Cotton as a world crop. Chapter 1. In: RJ Kohel, CF Lewis, eds. *Cotton* pp 1-25.
- [3] **GENÇER, O.**, 1999. Penbeden Pamuğa. Efsaneden Tarihe, Tarihten Bugüne Adana: Köprü Başı, Yapı Kredi Yayınları-1392, S. 591-599, İstanbul.
- [4] **Prof. Dr. Oktay GENCER**, Genel Tarla Bitkileri, Çukurova Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Kitabı No:42, Adana.
- [5] **NASS Acreage**, Agricultural Statistics Board, USDA, June 2010, retrieved August 7, 2010
- [6] **K. Chapagain, A.Y. Hoekstra, H.H.G. Savenije and R. Gautam**, 2006. "The water footprint of cotton consumption: An assessment of the impact of worldwide consumption of cotton products on the water resources in the cotton producing countries". *Ecological Economics* **60** (1): 186–203.
- [7] **ANONYMOUS**, 1975. Pamuk ile İlgili Mevzuat. Gıda-Tarım ve Hayvancılık Bakanlığı Pamuk İşleri Genel Müdürlüğü, Ankara.
- [8] **Prof. Dr. Oktay GENCER**, Genel Tarla Bitkileri, Çukurova Ünivrsitesi Ziraat Fakültesi, Ders Kitabı No:42, Adana.
- [9] **Oktay,A.R.**, 1999. Dünya Tekstil ve Konfeksiyon Üretimi ve Ticaretindeki Eğilimler, Hedef, Temmuz, 5:56-59.
- [10] **Pınar,M., N.Akyıl, S.Er, Y.E.Ertürk**, 1998. Pamuk Durum ve Tahmin:1997/98. Tarımsal Ekonomik Araş.Enst. Ankara.
- [11] **Turgay,N., G.Baillaux**, 1940. Pamuk ve Türkiye’de Ziraati. Ankara.
- [12] Foreign Agricultural Service / USDA Office of Global Analysis
- [13] **ANONYMOUS**, 2003a. TKB, Pamuk Danışma Kurulu, Aralık 2003, Denizli.
- [14] **ANONYMOUS**, 2001. DİE, Tarımsal Gosteriler: 1923-1998, T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü, Yayın No: 2407, Ocak 2001, Ankara.
- [15] **ÖZÜDOĞRU, T.**, 2002. Pamuk Durum ve Tahmin 2002-2003. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, Ankara.
- [16] **Şenel,M.**, 1967. Çukurova’da Yetiştirilen ve Pamuk Araştırma Enstitüsü’nde Denemeleri Yapılan Pamuk Çeşitleri, İpek Matbaası, Adana.
- [17] **ÖZÜDOĞRU, T.**, 2002. Pamuk Durum ve Tahmin 2002-2003. Tarım ve Köyişleri Bakanlığı, Tarımsal Ekonomi Araştırma Enstitüsü, Ankara.

- [18] **Özer, A.**, 1999. Pamuklu Tekstil Sektör Raporu. Türkiye Sınai Kalkınma Bankası A.Ş., Haziran.
- [19] Türkiye bitkisel yağ sanayicileri derneği
- [20] **Sezer, Ö.** 1981. Bölgede Ekilen Islah, Deneme ve Arastırma Projelerinde Denenen Pamuk Çesitlerinin Koza, Tohum, Lif ve Đplik Özelliklerinin Tayini. Adana Bölge Pamuk Arastırma Enstitüsü, Pamuk Arastırma Proje ve Sonuçları, 183-189.
- [21] **Buser, M.D., Abbas, H.K.** 2001. Update on the Impact of Dry Extruding Cottonseed to Reduce Aflatoxin and Gossypol Levels. Proceedings of the Beltwide Cotton Conference, 2: 1392-1403.
- [22] **Codex Alimentarius**, 2001. Fats, Oils and Related Products, Sec. Ed
- [23] **O'Brien, R.D.**, 1998. Fats and Oils, Technomic Pub. Co., Barel.
- [24] **Hoffmann, G.**, 1989. The Chemistry and Technology of Edible Oils and Fats and Their High Fat Products, Academic, Press Ltd., London.
- [25] **Gümüşkesen, A.S.**, 1999. Bitkisel yağ teknolojisi. Bitkisel Yağ Sanayicileri Derneği, yayın no. 5, sayfa.59, İzmir.
- [26] **DİE**, 2002c. Devlet İstatistik Enstitüsü Türkiye İstatistik Yıllığı 2001. DİE Yayın No: 2690. Ağustos. Ankara.
- [27] **Dölekoğlu, T.**, 2002. Gıda (Sıvı ve Katı Yağlar) Dergisi. Yıl:7. Sayı:2002-08. Eylül 2002. Dünya Yayıncılık A.Ş. "Globus" Dünya Basımevi, İstanbul.
- [28] **DTM**, 2002. Dış Ticaret Müsteşarlığı. Değişik Kayıtlar. Ankara.
- [29] **Kayahan, M.**, 2004. Yağlı Tohumlardan Ham Yağ Üretim Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitaplar Serisi No:7, Ankara.
- [30] **Nas, S., Gökalp, H.Y., Ünsal, M.**, 2001. Bitkisel Yağ Teknolojisi. Pamukkale Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Ders Kitapları, Yayın No:005, Denizli.
- [31] **Ergönül, B., Günc, P.**, 2003. Tüketilebilir Bitkisel Sıvı Yağ Üretim Hattında HACCP Sisteminin Uygulanması. 3. Gıda Mühendisliği Kongresi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitapları, 311-320, Ankara.
- [32] **Kayahan, M.**, 2005. Yemeklik Yağ Rafinasyon Teknolojisi, TMMOB Gıda Mühendisleri Odası Kitaplar Serisi No:10, Ankara.
- [33] **Latif, S., Anwar, F.**, 2009. Effect of Enzymatic Processes on Sunflower Oil Quality. *J Am Oil Chem Soc*, 86, 393-400
- [34] **Ramadan, M. F., Moersel, J., Moersel T.**, 2009. Oil extractability from enzymatically treated goldenberry (*Physalis peruviana L.*) pomace: range of operational variables. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 435-444.
- [35] **Dunford, N.T., Dunford, H.B.**, 2004. *Nutritionally Enhanced Edible Oil Processing*, Ch. 5, AOCS Publishing.

- [36] **Dominguez, H., Nunez, M.J., and Lema, J.M.**, 1993. Oil Extractability from Enzymatically Treated Soybean and Sunflower: Range of Operational Variables, *Food Chem.*, **46**, 277–284 .
- [37] **Rosenthal, A., Pyle, D.L., Niranjana, K., Gilmour, S., and Trinca, L.**, 2001. Combined Effect of Operational Variables and Enzyme Activity on Aqueous Enzymatic Extraction of Oil and Protein from Soybean, *Enzyme Microb. Technol.*, **28**, 499–509.
- [38] **Nyam, K.L.**, 2009. Physicochemical properties of Kalahari melon seed oil following extractions using solvent and aqueous enzymatic methods, *Int. J. Food Sci.*, **44**, 694-701.
- [39] **Ghodsvali, A., Khodaparast, H., Hosein, M.H., Diosady, Levente, L.**, 2009. Aqueous Extraction of Virgin Olive Oil Using Industrial Enzymes, *Food Res. Int.*, **42**, 171-175.
- [40] **Tano-Debrah, K., and Ohta, K.**, 1994. Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Fat from Kernels of the Shea Tree *Butyrospermum parkii*, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **71**, 979–982.
- [41] **Hanmoungjai, P., Pyle, D.L., and Niranjana, K.**, 2001. Enzymatic Process for Extracting Oil and Protein from Rice Bran, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **78**, 817–821.
- [42] **Hanmoungjai, P., Pyle, D.L., and Niranjana, K.**, 2002. Enzyme-Assisted Water-Extraction of Oil and Protein from Rice Bran, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **77**, 771–776.
- [43] **Jiang, L., Hua, D., Wang, Z., and Xu, S.**, 2009. Aqueous enzymatic extraction of peanut oil and protein hydrolysates, *Food Sci. Technol.*, **14**, 533-540.
- [44] **Caetano, M. F., Couri, S., Freitas, S. P.**, 2002. Enzymatic aqueous extraction of sunflower oil from extruded kernels, *Rivista Italiana delle Sostanze Grasse*, **79**, 165-169.
- [45] **Latif, S., Diosady, L.L., Anwar, F.**, 2008. Enzyme-assisted aqueous extraction of oil and protein from canola (*Brassica napus* L.) seeds, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **110**, 887–892.
- [46] **Womani, H.M., Ndjouenkeu, R., Kapseu, C., Mbiapo, F.T., Parmentier, Fanni, J.**, 2008. Aqueous Enzymatic Oil Extraction from *Irvingia gabonensis* Seed Kernels, *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, **110**, 232–238.
- [47] **Freitas, S.P., Hartman, L., Couri, S., Jablonka, F.H., and de Carvalho, C.W. P.**, 1997. The Combined Application of Extrusion and Enzymatic Technology for Extraction of Soybean Oil, *Fett Lipid*, **99** (9), 333-337.
- [48] **Kashyap, D.R., Vohra, P.K., Chopra, S., And Tewari, R.** 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*, **77**, 215-227.
- [49] *Functional Products Texapon N70*, 2009.
[http://www.products.cognis.com/cognis/prodleafR2.nsf/\(\\$ProductsbyDocID_PL-Header\)/REF4FBD4616EFFF755341256AA9005A762D/\\$file/Texapon_N_70_E.pdf](http://www.products.cognis.com/cognis/prodleafR2.nsf/($ProductsbyDocID_PL-Header)/REF4FBD4616EFFF755341256AA9005A762D/$file/Texapon_N_70_E.pdf)

- [50] **Shah, S., Sharma, A., and Gupta, M. N.**, 2005. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction, *Fuel and Energy Abstracts*, **46**, 316.
- [51] **Freitas, S.P., Hartman, L., Couri, S., Jablonka, F.H., and de Carvalho, C.W. P.**, 1997 The Combined Application of Extrusion and Enzymatic Technology for Extraction of Soybean Oil, *Fett Lipid*, **99** (9), 333-337.
- [52] **Lamsal, B. P., MurpHy, P. A., Johnson, L.A., Lamsal, B. P.**, 2006. Flaking and Extrusion as Mechanical Treatments for Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Oil from Soybeans, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **83** (11), 973-979.
- [53] **Zhang, S.B., Wang, Z., and Xu, S.Y.**, 2007. Optimization of the Aqueous Enzymatic Extraction of Rapeseed Oil and Protein Hydrolysates, *J. Am. Oil Chem. Soc.* **84** (1), 97- 105.
- [54] **American Oil Chemists' Society (AOCS)**, 1997. Official and recommended practices of the American Oil Chemists Society, 5th edn. AOCS Press, Champaign.
- [55] The Soxhlet Extractor, 25 Mart 2010, <http://www.campbell.edu/faculty/jung/>
- [56] **Moreau, R.A., Johnston, D.B., Powell, M.J., and Hicks, K.B.**, 2006. A Comparison of Commercial Enzymes for the Aqueous Enzymatic Extraction of Corn Oil from Corn Germ, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **81** (11),1071-1075.
- [57] **Jovanovic, K.P., Vrbaski, Z., Milovanovic, M.**,1997. Aqueous-enzymatic extraction of plum kernel oil, *Fett Lipid*, **99** (12), 433-435.
- [58] **Rüçhan D. Gibbins**, 2010. Optimization of aqueous enzymatic oil extraction from safflower via response surface methodology, ITU M.Sc. Thesis.
- [59] **Santamaría, R.I., Soto, C., Zúñiga, M.E., Chamy, R., and López-Munguía, A.**, 2003. Enzymatic Extraction of Oil from *Gevuina avellana*, the Chilean Hazelnut, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **80**, 33-36.
- [60] **Shao Bing Zhang, Zhang Wang, Shi Ying Xu**, 2007. Downstream Processes for Aqueous Enzymatic Extraction of Rapeseed Oil and Protein Hydrolysates, *J Amer. Oil Chem. Soc.*, **84**,693–700
- [61] **Sharma, A., Khare, S.K., and Gupta, M.N.**, 2002. Enzyme-Assisted Aqueous Extraction of Peanut Oil, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, **79**, 215-218.
- [62] **Bligh, E.G. and Dyer,W.J.**, 1959. A rapid method for total lipid extraction and purification, *Can.J.Biochem.Physiol.* 37:911-917
- [63] **Nasuk A., Sabatini DA., Tongcumpou C.**, 2009. Microemulsionbased palm kernel oil extraction using mixed surfactant solutions. *Ind Crops Prod.* **30**(2),194–198
- [64] **Linh D. Do, David A. Sabatini**, 2010. Aqueous Extended-Surfactant Based Method for Vegetable Oil Extraction: Proof of Concept, *J Am Oil Chem Soc*, **87**,1211–1220

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad: Mustafa SARAÇ

Doğum Yeri ve Tarihi: İstanbul, 1985

Adres: Kocayol cad. İbrahimağa sk. Uğur Apt. No:4/19 Bostancı - İstanbul

Lisans Üniversitesi:

2004 – 2008 İstanbul Üniversitesi
Kimya Mühendisliği

Yüksek Lisans Üniversitesi:

2009 – İstanbul Teknik Üniversitesi
Kimya Mühendisliği

Staj:

2006 EMBİL İlaç Sanayii
Laboratuar stajı

2007 SANDOZ İlaç San. ve Tic. A.Ş
İşletme stajı